

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique



Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Génétique Appliquée

Thème

Etude cytogénétique de l'espèce *Ebenus pinnata* Aiton (Fabaceae) du Golfe de Béjaïa et de la Vallée de la Soummam.

Présenté par :

GADOUM Nawal & HAMMA Aida

📅 Soutenu le : 13 Juin 2016

Composition du jury

M ^{lle} K. AYOUNI	Maître Assistant A., UAM	Présidente
Mr M. SAHNOUNE	Professeur, UAMB	Encadreur
M ^{me} Y. BENMESSAOUD	Maître Assistant A., UAMB	Examinatrice

Année universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

Nos vifs remerciements au **Pr M. SAHNOUNE**, pour son aide, sa patience et ses encouragements qu'il n'a cessé de nous communiquer.

Nous tenons particulièrement à remercier tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie en particulier ceux qui ont contribué à notre formation Master, pour leurs efforts, leurs directives et précieux conseils durant toute notre formation.

Nos remerciements vont également à **M^{lle} K. AYOUNI** pour avoir accepté de présider le jury. À **M^{me} Y. BENMESSAOUD** pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude au directeur du laboratoire d'écologie de l'Université de Bejaïa, pour avoir accepté de nous accueillir au sein de son laboratoire et de nous avoir offert les moyens disponibles à son niveau.

Nous remercions vivement **M^{lle} ZEMOURI Tassadit** pour sa disponibilité le long de la préparation de ce mémoire, pour ses précieux conseils et toute son aide. A **M^{lle} BENMOUHOU B Hassina** et **Mr MAHDJOUB Malik**, pour leur aide, leur soutien et conseils.

Nos remerciements vont, également, aux ingénieurs et techniciens du laboratoire d'écologie, pour leurs encouragements et leurs aides inconditionnelles aux étudiants. Sans votre aide, notre travail n'aurait pas vu le jour.

A vous tous, nous reformulons, nos remerciements les plus vifs, et nous vous dédions aussi ce modeste travail.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers parents qui m'ont soutenu et me
soutiennent toujours, le long de mon parcours et me simplifie
toute épreuve.*

*A mon cher frère Lyes et ma belle sœur Fatima
A mon aimable sœur Amel et tonton Haroun.*

A mon adorable nièce Dhikra

A tous mes oncles et tantes

*A toutes mes amies en particulier mon binôme Nawel,
et aussi Naima, Katia, Zineb, Hadjira, Hayat, Rima, Tafath,
Lilia, et Nadia.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation
de ce modeste travail*

Aida ✍



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui m'ont soutenu pendant de longues années d'études.

A la mémoire de mes deux grands pères et ma chère grande mère Baya.

A ma grande mère et mes tantes.

A mes aimables sœurs: Soumia, Yasmina et son mari, Fouzia et Yousra.

A mes aimables frères et belles soeurs: Houcine et sa femme, Abdelkarim et sa femme; ainsi que mes frères Adel et Mustapha.

A mon cher future mari: Adel et toutes sa famille,

A mes très chères nièces : Nourcine, Maroua et Maria.

A Badro et Chahla

A mes amies Hanane et son mari, Radia, Lamia, Nadjete, Akila, Kenza, Katia, Soumaia, Sara, mon binôme Aida et sa famille, et a toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin.

Nawal ✍



SOMMAIRE

REMERCIEMENT

DÉDICACES

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I.1- LES FABACEAE.....	2
I.2- LE GENRE <i>EBENUS L</i>	2
I.2.1- INTERET DES ESPÈCES DU GENRE <i>EBENUS L</i>	3
I.2.2- ECOLOGIE ET DISTRIBUTION D' <i>EBENUS PINNATA</i>	3
I.2.3- MORPHOLOGIE D' <i>EBENUS PINNATA</i>	4
I.2.4- DONNÉES CYTOGÉNÉTIQUES DE QUELQUES ESPÈCES DU GENRE <i>EBENUS L</i>	6
I.2.5- SYSMATIQUE ET PHYLOGENIE.....	11

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II-MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	17
II.1- MATÉRIEL UTILISÉ	17
II.1.1- ZONE D'ÉCHANTILLONNAGE	17
II.2- ÉTUDE DES MITOSES	17
II.2.1- PRÉPARATIONS DES SOLUTIONS	18
II.2.1.1- LES SOLUTIONS DE PRÉTRAITEMENT	18
II.2.1.2- LE FIXATEUR	18
II.2.1.3- LE COLORANT	18

SOMMAIRE

II.2.1.4- LES SOLUTIONS D'HYDROLYSE.....	19
II.2.2- ÉTAPES DE LA PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE MITOSES	19
II.3- ÉTUDE DES MÉIOSES	21
II.3.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS.....	21
II.3.1.1- FIXATEUR.....	21
II.3.1.2- COLORANT.....	21
II.3.2- ÉTAPES DE LA PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE MÉIOSES.....	21
II.4- ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE.....	22
II.4.1- PRÉPARATION DU COLORANT (BLEU DE COTON).....	22
II.4.2- PROTOCOLE DE PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DES GRAINS DE POLLEN.....	22
II.4.3- ÉVALUATION DE TAUX DE FERTILITÉ POLLINIQUE ..	22
 CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DUSCUSSION 	
III.1-RÉSULTATS.....	24
III.1.1- MORPHOLOGIE D' <i>EBENUS PINNATA</i>	24
III.1.2- GERMINATION ET CULTURE.....	26
III.1-3- RÉSULTATS CYTOGENETIQUE	26
III.1.3.1- ÉTUDE DES MITOSES.....	26
III.1.3.1.1- LES STADES DE LA MITOSE.....	26
III.1.3.1.2- COMPTAGE DES CHROMOSOMES EN MITOSE.....	28
III.1.3.1.3 - ETABLISSEMENT DU CARYOGRAMME.....	28
III.1.3.2-ETUDE DES MÉIOSES.....	29
III.1.3.2.1-LES ÉTAPES DE LA MEIOSE.....	29
III.1.3.2.2 - ÉTUDE DES CHROMOSOMES EN MEIOSE.....	31
III.1.3.3- ANALYSE DE FERTILITÉ POLLINIQUE.....	31

SOMMAIRE

III.2-DISCUSSION	33
III.2.1- PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE CHROMOSOMES.....	33
III.2.2- DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES.....	33
III.2.3- MORPHOLOGIE ET TAILLE DES CHROMOSOMES.....	33
III.2.4- ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE	35
CONCLUSION.....	36
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	37
RÉSUMÉ	

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre	Page
Figure 1 :	Répartition géographique de l' <i>Ebenus pinnata</i> (CJB, Base de données des plantes d'Afrique, 2016).....	4
Figure 2:	La morphologie de l' <i>Ebenus pinnata</i> . a- formes des feuilles, b- jeune individu en début de florissant, c-individu en fleur, d- fleur rose épanouie (http://www.teline.fr/fr/photos/fabaceae/ebenus-pinnata#photo-7 , 2016).....	5
Figure 3:	Graines de <i>Ebenus pinnata</i> : (a) type éphémère, (b) type modulaire, et (c) type permanent (Hegazy <i>et al.</i> , 2010).....	5
Figure 4:	Les différents types fonctionnels de <i>Ebenus pinnata</i> , (a) le type éphémère, (b)le type modéré, et (c) le type permanent (Hegazy <i>et al.</i> , 2010).....	6
Figure 5:	Plaques métaphasiques de 6 espèces d' <i>Ebenus</i> L. a) <i>Ebenus plumosa</i> var. <i>plumosa</i> , b) <i>Ebenus plumosa</i> var. <i>speciosa</i> , c) <i>Ebenus macrophylla</i> , d) <i>Ebenus barbiger</i> , (Aksoy <i>et al.</i> , 2001) e) <i>Ebenus longipes</i> , <i>Ebenus argentea</i> (Aytaç <i>et al.</i> , 2000).[Barre d'échelle correspond à 10 µm pour a,b,c,d et de 5 µm pour e,f]	7
Figure 6:	Idiogrammes de 6 espèces du genre <i>Ebenus</i> L. a- <i>E. plumosa</i> var. <i>Plumosa</i> , b- <i>E. plumosa</i> var. <i>Speciosa</i> , c- <i>E. macrophylla</i> , d- <i>E. barbiger</i> , (Aksoy <i>et al.</i> , 2001); e- <i>E. longipes</i> , f- <i>E. argentea</i> , (Aytaç <i>et al.</i> , 2000). [La barre d'échelle correspond à 2 µm pour a, b, c, d, et à 1 µm pour e, f].....	10
Figure 7:	Arbre le plus parcimonieux de l'analyse cladistique basée sur 21 caractères morphologiques des espèces du genre <i>Ebenus</i> et genres proches. Les valeurs sur les branches correspondent aux pourcentages boot strap (Kaveh et Kazempour Osaloo, 2012)	12

Figure 8 : Profils SDS-PAGE des protéines des graines chez le genre <i>Ebenus</i> (1) <i>E. macrophylla</i> , (2) <i>E. plumosavar. plumosa</i> , (3) <i>E. plumosavar. speciosa</i> , (4) <i>E. barbiger</i> ,(5) <i>E. reesei</i> ,(6) <i>E. haussknechtii</i> ,(7) <i>E. depressa</i> , (8) <i>E. bourgaei</i> , (M) Marqueurs [Myosine (200 kDa), β-galactosidase (116 kDa), phosphorylase b (97 kDa), sérum albumine (66 kDa), ovalbumine (45 kDa), anhydrase carbonique (31 kDa), inhibiteur de trypsine (21 kDa), lysozyme (14 kDa)], (9) <i>E. cappadocica</i> , (10) <i>Eboissieri</i> , (11) <i>E. hirsuta</i> , 12- <i>E. longipes</i> , (13) <i>E. argentea</i> , (14) <i>E. laguroides</i> , (15) <i>E. pisidica</i> . (Çelebi et al., 2009)	13
Figure 9: Phénogramme UPGMA basé sur les similarités calculées sur la base des profils SDS- PAGE des protéines des graines chez quelques espèces d' <i>Ebenus</i> (Çelebi et al., 2009)	14
Figure 10: Profiles RAPD de 15 espèces du genre <i>Ebenus</i> . M: Marqueurs (Fermentas, Gene Ruler™ DNAL adder Mix SMO331; 10000, 8000, 6000, 5000, 4000, 3500, 3000, 2500, 2000, 1500, 1200, 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 bp) 1- <i>E. macrophylla</i> ; 2- <i>E. plumosa var. plumosa</i> ; 3- <i>E. plumosa var. speciosa</i> ; 4- <i>E. barbiger</i> ; 5- <i>E. reesei</i> ; 6- <i>E. haussknechtii</i> ; 7- <i>E. depressa</i> ; 8- <i>E. bourgaei</i> ; 9- <i>E. cappadocica</i> ; 10- <i>E boissieri</i> ; 11- <i>E. hirsuta</i> ; 12- <i>E. longipes</i> ; 13- <i>E. argentea</i> ; 14- <i>E. laguroides</i> (Çelebiet al., 2009).....	15
Figure 11: Phénogramme UPGMA basé sur les profils RAPD de 15 espèces du genre <i>Ebenus</i> (Çelebi et al., 2009).....	16
Figure 12: Herbar d' <i>Ebenus pinnata</i> (Kherrata, le 04/05/2016).....	24
Figure 13: Morphologie de la plante <i>Ebenus pinnata</i> . a- Feuille b- Inflorescence, c-Bractée, d-Calice, e-Corolle, f-Gousse,g,h- Graines [La barre d'échelle corespond à 2cm pour a, et à 5 mm pour b,c,d,e,f,g].....	25

Figure 14: Graines d' <i>Ebenus pinnata</i> en germination.(Prise par un appareil photos type SAMSUNG LENS).....	26
Figure 15: Les différents stades de la mitose chez <i>Ebenus pinnata</i> de la région de Béjaïa. a-prophase, b- métaphase vue de profile, c- métaphase vue de face, d-début d'anaphase, e-fin d'anaphase, f-télophase. La barre d'échelle correspond à 10 µm.....	27
Figure 16: Caryotype d' <i>Ebenus pinnata</i> de la région de Béjaïa. a : Microphotographie d'une plaque métaphasique d'une cellule en mitose (Protocole N°3);b: Interprétation de la plaque métaphasique en a; c: Caryogramme basé sur b ; d : Idiogramme correspondant à d. Les flèches indiquent les chromosomes satellifères.	29
Figure 17: Les stades de la méiose chez <i>Ebenus pinnata</i> de Béjaïa. a-prophase, b- métaphase I, c-début d'anaphase I, d-fin d'anaphase, e- metaphase II, f-anaphase II, g-telophase. La barre d'échelle correspond à 10 µm.....	30
Figure18: Forme des Grains de pollen del' <i>Ebenus pinnata</i> . Coloration à l'orcéine lactopropionique. La flèche indique un grain de pollen en germination. La barre d'échelle correspond à 20 µm, GX40.....	31
Figure 19: Grains de pollen normaux et grains de pollen anormaux d' <i>Ebenus pinnata</i> . Coloration au bleu de coton. La flèche indique un grain de pollen anormal. La barre d'échelle correspond à 20 µm, GX40.....	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page
Tableau I:	Tailles (μm) des chromosomes de 6espèces d' <i>Ebenus</i> L. (Aksoy <i>et al.</i> , 2001; Aytaç <i>et al.</i> , 2000).....	8
Tableau II:	Formules chromosomiques et tailles des chromosomes chez 6 espèces d' <i>Ebenus</i> (Aksoy <i>et al.</i> , 2001; Aytaç <i>et al.</i> , 2000).....	11
Tableau III:	Classification de l'espèce d' <i>Ebenus pinnata</i> Aiton (NCBI)	11
Tableau IV:	Origine géographique et dates de récolte des échantillons.....	17
Tableau V:	Les protocoles utilisés pour la préparation des observations de mitose...	20
Tableau VI:	Taille des chromosomes mitotiques d' <i>Ebenus pinnta</i> . Les chromosomes sont classés par ordre décroissant de longueur totale (L+C)	28
Tableau VII:	Taux de fertilité pollinique chez l' <i>Ebenus pinnata</i> de Béjaïa.....	32

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La famille des Fabaceae qui comprend 20000 espèces et plus de 730 genres est considérée comme l'une des plus grandes familles des plantes à fleurs (**Wojciechowski et al., 2004; Cronk et al., 2006**).

L'Algérie de par sa position géographique est privilégiée, ce qui lui confère une flore extrêmement riche et variée représentée par plus de 4125 plantes vasculaires réparties en 123 familles botaniques dont les Fabaceae (**Nouioua, 2011 ; Kaabèche, 2013**).

Parmi ces Fabacées se trouve le genre *Ebenus*L. qui est représenté par 20 espèces dont 14 sont endémiques de la Turquie et 6 distribuées entre le Nord de l'Afrique, la Crète, l'Iran et la Péninsule arabique (**Aytaç et al., 2000 cité par Azcan et al., 2001; Çelebi et al., 2009; Kaveh et al., 2012**).

Le genre *Ebenus* présente plusieurs intérêts :

E. hausknechtii et *E. hirsuta* sont utilisées pour le traitement de diverses affections, comme les problèmes de la peau, rénaux et de l'hypertension (**Pinar et al., 2000; Uyar et al., 2006; Ozdmir et Alpınar, 2015**). La présence d'agents anticonvulsifs a été confirmée dans les extraits de *Ebenus stellata* par **Khodaparast et al., (2012)**. Les parties aériennes d'*E. pinnata* sont riches en composés à activité anti-oxydante comme l'ombuoside et la catéchine (**Abreu et al., 2007**). Les espèces du genre *Ebenus* qui croissent sur des sols pauvres sont utilisées pour la revalorisation des sols et contre l'érosion (**Çelebi et al., 2009**). *E. pinnata* constitue dans notre région un fourrage très apprécié par le bétail (Zemouri, observation personnelle).

Les espèces du genre *Ebenus* étudiées jusqu'ici du point de vue caryologique sont à $2n = 2x = 14$, avec un caryotype symétrique dont une paire de chromosomes satellifères (**Aytaç et al., 2000; Aksoy et al., 2001**). Mis à part le comptage de $2n = 2x = 14$ rapporté par **Aloui et Rezki (2012)** pour une micropopulation d'Ighzer Amokrane, *E. pinnata* est très peu étudié caryosystématiquement à l'échelle de toute l'Afrique du Nord.

Ce travail vise donc à contribuer à la caractérisation cytogénétique des populations d'*E. pinnata* du Golfe de Béjaïa et de la Vallée de la Soummam, et cela par l'observation des différentes étapes de la mitose et de la méiose, le comptage des nombres chromosomiques, la construction d'un caryogramme et d'un idiogramme et l'évaluation des fertilités polliniques pour ces populations.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**I.1- LES FABACEAE**

La famille des Fabaceae ou Leguminosae est la seconde famille la plus importante économiquement après les Graminae, et la troisième plus grande famille floristiquement parmi les angiospermes après les Orchidaceae et les Asteraceae (**Azcan, 2001; Bayrakdar, 2010**).

Cette famille appartient à l'ordre des Fabales qui regroupent selon la classification APG III (2009) trois sous-familles: les Caesalpinioideae, Mimosoideae et les Faboideae (Papilionoideae).

Les espèces qui la composent sont réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical, elles se rencontrent sous forme ligneuse dans les climats chauds ou sous forme herbacée dans les climats tempérés (**Dupont et al., 2007**).

I.2- LE GENRE *EBENUS* L.

Toutes les espèces du genre *Ebenus* sont distribuées dans la Région Irano-Turanienne, le bassin méditerranéen, le nord de l'Afrique et la péninsule arabique. Ces espèces sont réparties en trois sections: *Euebenus* Boiss., *Tragacantha* Boiss. et *Ebenidium* Boiss. (**Aksoy et al., 2001**).

Le genre *Ebenus* L. (Famille des Leguminosae, sous-famille des Papilionoideae) est représenté mondialement par 20 espèces. En Turquie, le genre *Ebenus* comprend un total de 16 taxa incluant 14 espèces dont deux avec deux variétés chacune: *E. plumosa* Boiss. et Bal. (avec deux variétés : *E. plumosa* var. *plumosa* et *E. Plumosa* var. *speciosa*), *E. macrophylla* Jaub. et Spach., *E. barbiger* Boiss., *E. reesei* Hub-Mor. (avec deux variétés: *E. reesei* var. *reesei*, *E. reesei* var. *minor*), *E. haussknechtii* Bornm. ex Hub-Mor., *E. depressa* Boiss. et Bal., *E. bourgaei* Boiss., *E. cappadocica* Hausskn. Siehe ex Bornm., *E. boissieri* Barbey., *E. longipes* Boiss. et Bal., *E. hirsuta* Jaub. et Spach., *E. laguroides* Boiss., *E. pisidica* Hub-Mor., *E. argentea* Siehe ex Bornm. Toutes ces espèces sont endémiques de la Turquie (**Aytaç et al., 2000 cités par Azcan et al., 2001; Çelebi et al., 2009**). Les autres espèces sont *E. pinnata* Ait. (Afrique du Nord), *E. armitagei* Schweinf et Traub. (Egypte, Libye et Est algérien), *E. cretica* L. et *E. sibthorpii* DC. (Crète), *E. stellata* Boiss. (Afghanistan, Perse et Péninsule arabique), *E. lagopus* (Iran) (**Kaveh et al., 2012**).

I.2.1- INTERET DES ESPECES DU GENRE *EBENUS* L.

Les plantes ou produits de plantes sont reconnus comme la plus importante source de nourriture et formulation de médicaments depuis l'Age préhistorique. Aujourd'hui les applications faites avec des herbes sont en croissance rapide (Ceylan *et al.*, 2009).

La famille des Fabacées est l'une des familles qui contient de nombreuses espèces précieuses dont la plupart des espèces du genre *Ebenus* L. (Güner *et al.*, 2012). *Ebenus hausknechtii* et *Ebenus hirsuta*, endémiques de la Turquie, sont utilisées pour le traitement de diverses affections, comme les problèmes de la peau, rénaux et de l'hypertension (Pinar *et al.*, 2000; Uyar *et al.*, 2006; Ozdmir et Alpınar, 2015). La présence d'agents anticonvulsifs a été confirmée dans les extraits de *Ebenus stellata* par Khodaparast *et al.*, (2012).

Pour ce qui est de *Ebenus pinnata*, l'analyse d'extraits de la partie aérienne a permis d'isoler des composés tels que l'ombuoside et la catéchine qui ont montré une activité antioxydante (Abreu *et al.*, 2007).

Les espèces du genre *Ebenus* croissent sur des sols pauvres, elles sont de ce fait utilisées pour la revalorisation des sols et contre l'érosion (Çelebi *et al.*, 2009).

I.2.2- ECOLOGIE ET DISTRIBUTION D'*EBENUSPINNATA*

E. pinnata est une espèce annuelle, endémique de Afrique du Nord, de la Libye au Maroc en passant par la Tunisie et l'Algérie (Hegazy *et al.*, 2010; Gandoger, 1908)(Figure 1).Elle se trouve dans toute l'Algérie sauf sur le littoral constantinois poussant dans les broussailles et les pâturages (Quézel et Santa, 1962).En Libye, cette espèce est confinée aux régions côtières et arides du nord-ouest au niveau du parc national Masallat qui se trouve à une altitude de 200 à 300 m (Hegazy *et al.*, 2010).

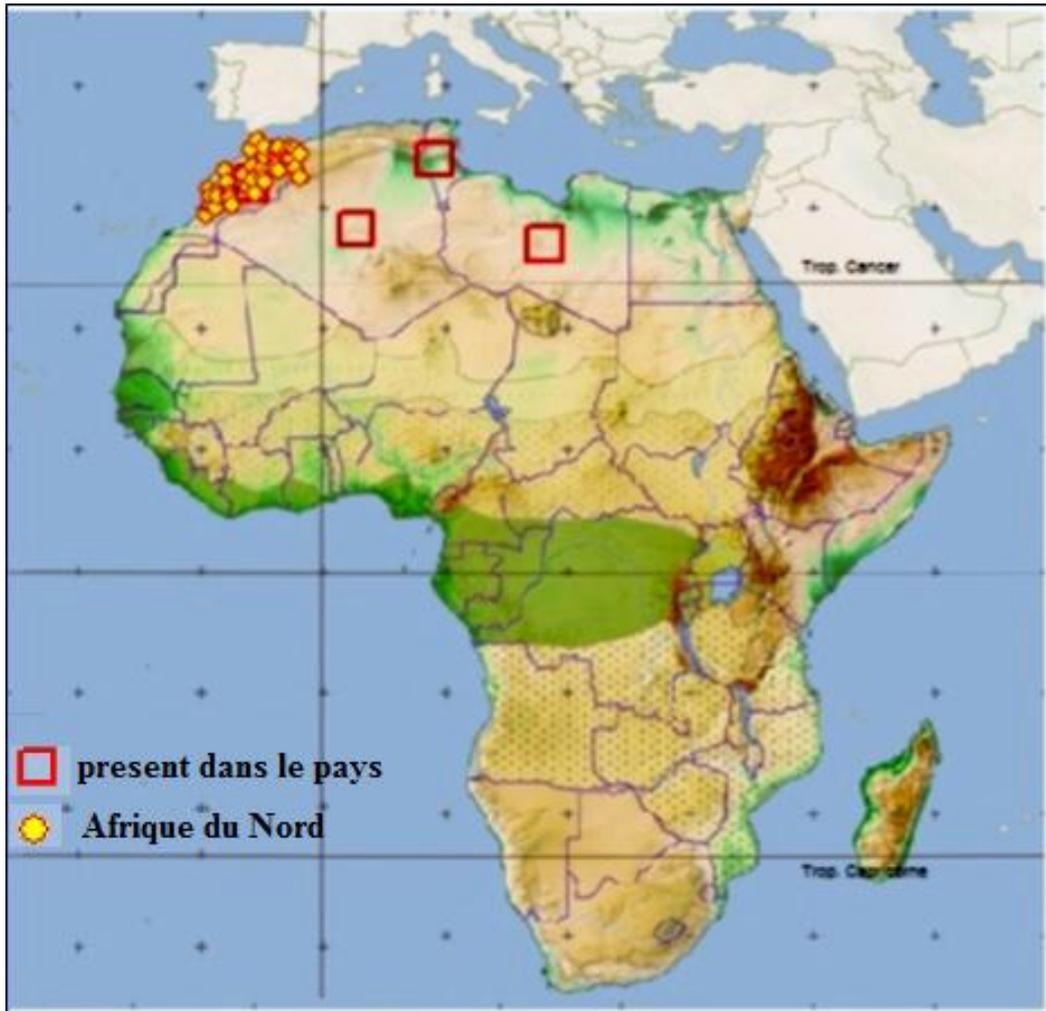


Figure 1: Répartition géographique de *Ebenus pinnata* (CJB, Base de données des plantes d'Afrique, 2016).

I.2.3- MORPHOLOGIE D'*EBENUSPINNATA*

E. pinnata est une plante vivace, à tiges ramifiées de 30-60 cm. Feuilles à 2-5 paires de folioles linéaires-lancéolées. Stipules plus ou moins soudées entre elles. Inflorescences très longuement pédonculées en épis ovoïdes denses rendus très villex par les poils du calice. Elle a des fleurs roses de petite taille (5-6 mm), incluses dans le calice long de 12-15 mm. Etamines monadelphes à la base et diadelphes au-dessus. Gousses ovoïdes, membraneuses, incluses dans le calice, velues à la base (Figure2) (Quézel et Santa, 1962).

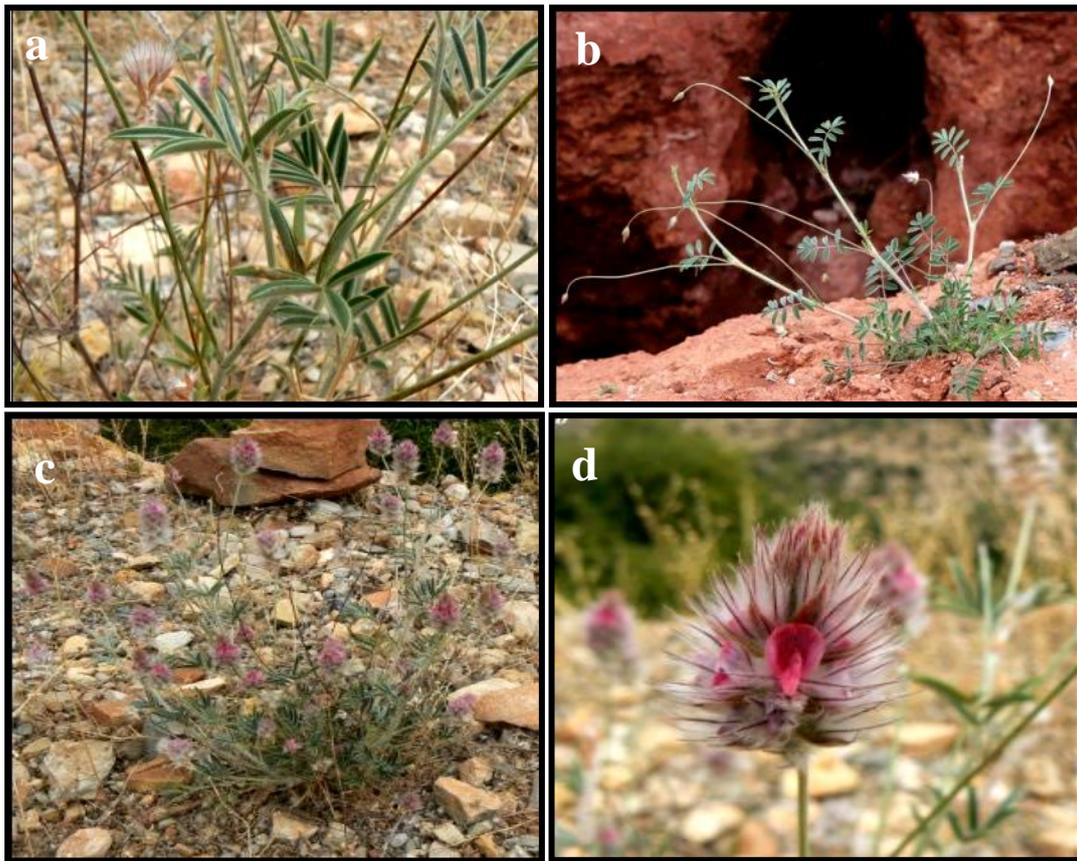


Figure 2: La morphologie d'*Ebenus pinnata*. a- formes des feuilles, b- jeune individu en début de florissant, c-individu en fleur, d- fleur rose épanouie (<http://www.teline.fr/fr/photos/fabaceae/ebenus-pinnata#photo-7>, 18.04.2016).

Les couleurs des graines de *E. pinnata* hangent; cela va du marron au jaune (Figure 3) (Bayrakdar *et al.*, 2010).

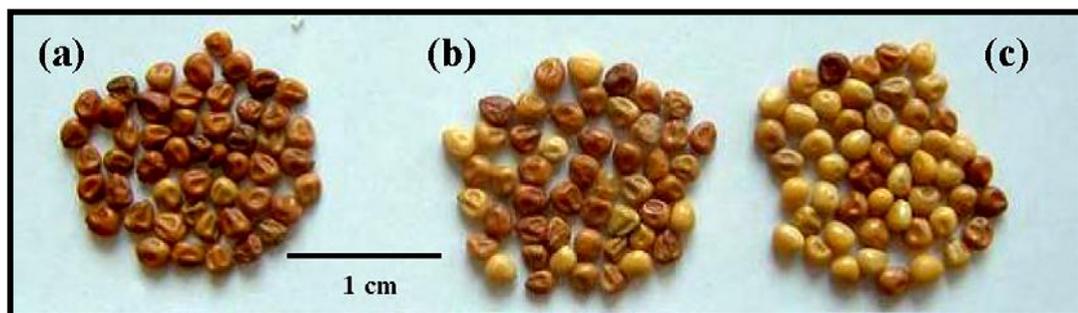


Figure 3: Graines de *Ebenus pinnata*: (a) type éphémère, (b) type modéré, et (c) type permanent (Hegazy *et al.*, 2010).

Hegazy *et al.* (2010) signalent la présence de trois types fonctionnels (trois types morphologiques) pour *E. pinnata*: le type éphémère, le type modéré et le type permanent (Figure 4). Le type éphémère (Figure 4-a) est représenté par de petits individus qui ont peu d'inflorescences (1–5 inflorescences par individu). Le type modéré (Figure 4-b) est

représenté par de plus grands individus qui ont un grand nombre d'inflorescences (5–50 inflorescences par individu). Le type permanent (Figure 4-c) est représenté par des individus qui ont le plus grand nombre d'inflorescences (50–100 inflorescences par individu) (Hegazy *et al.*, 2010).

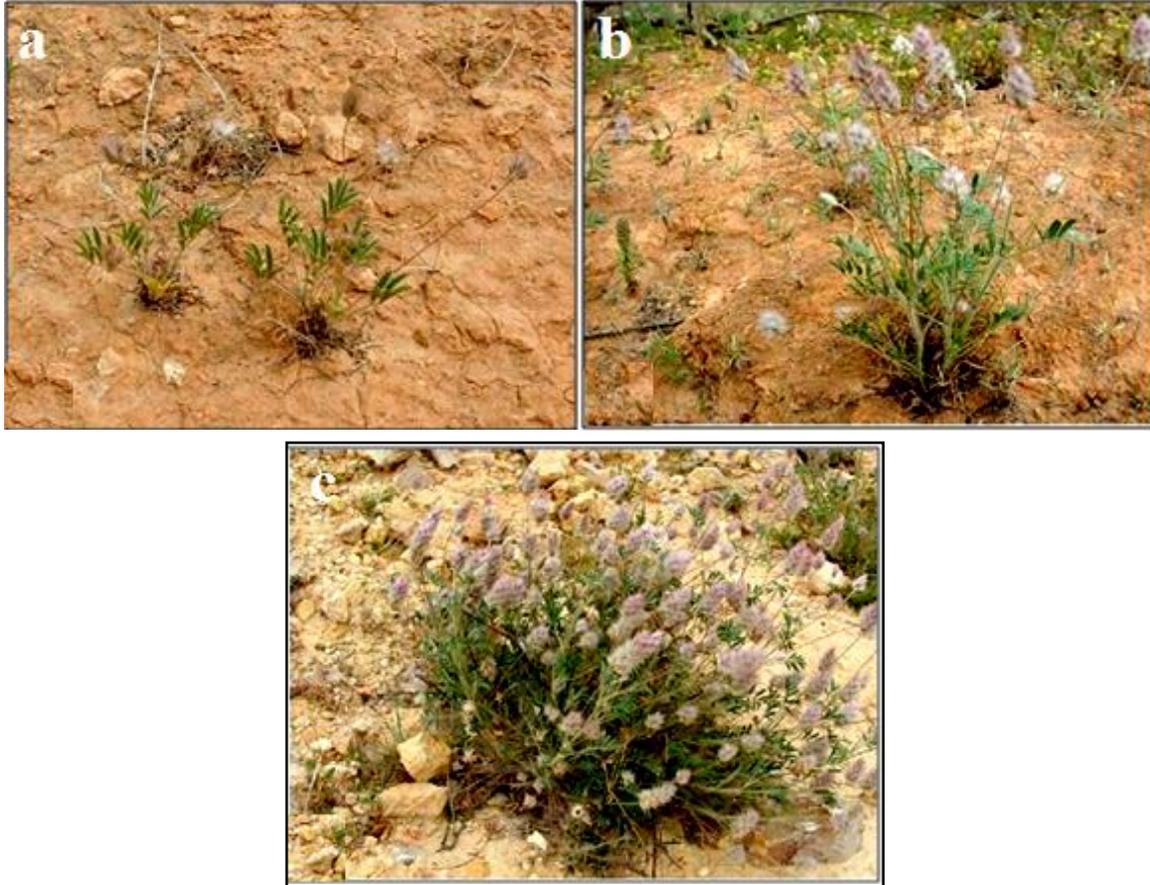


Figure 4: Les différents types fonctionnels de *Ebenus pinnata*, (a) le type éphémère, (b) le type modéré, et (c) le type permanent (Hegazy *et al.*, 2010).

Ces différents types indiquent un changement possible dû à un stress environnemental, de ce fait le type éphémère domine les micro-habitats secs, le modéré domine les environnements favorables à la croissance, et enfin le permanent se retrouve dans les habitats où l'humidité du sol reste présente pendant l'été (Hegazy *et al.*, 2010).

I.2.4- DONNEES CYTOGENETIQUES DE QUELQUES ESPECES DU GENRE *EBENUS* L.

Les dénombrement chromosomiques rapportés pour 6 espèces de *Ebenus* L. à savoir *E. plumosa* var *plumosa*, *E. plumosa* var *speciosa*, *E. macrophyla*, *E. barbiger* (Aksoy *et al.*, 2001) et *E. longipes*, *E. argentea* (Aytaç *et al.*, 2000) sont de $2n = 2x = 14$ ($x = 7$) (Figure 5).

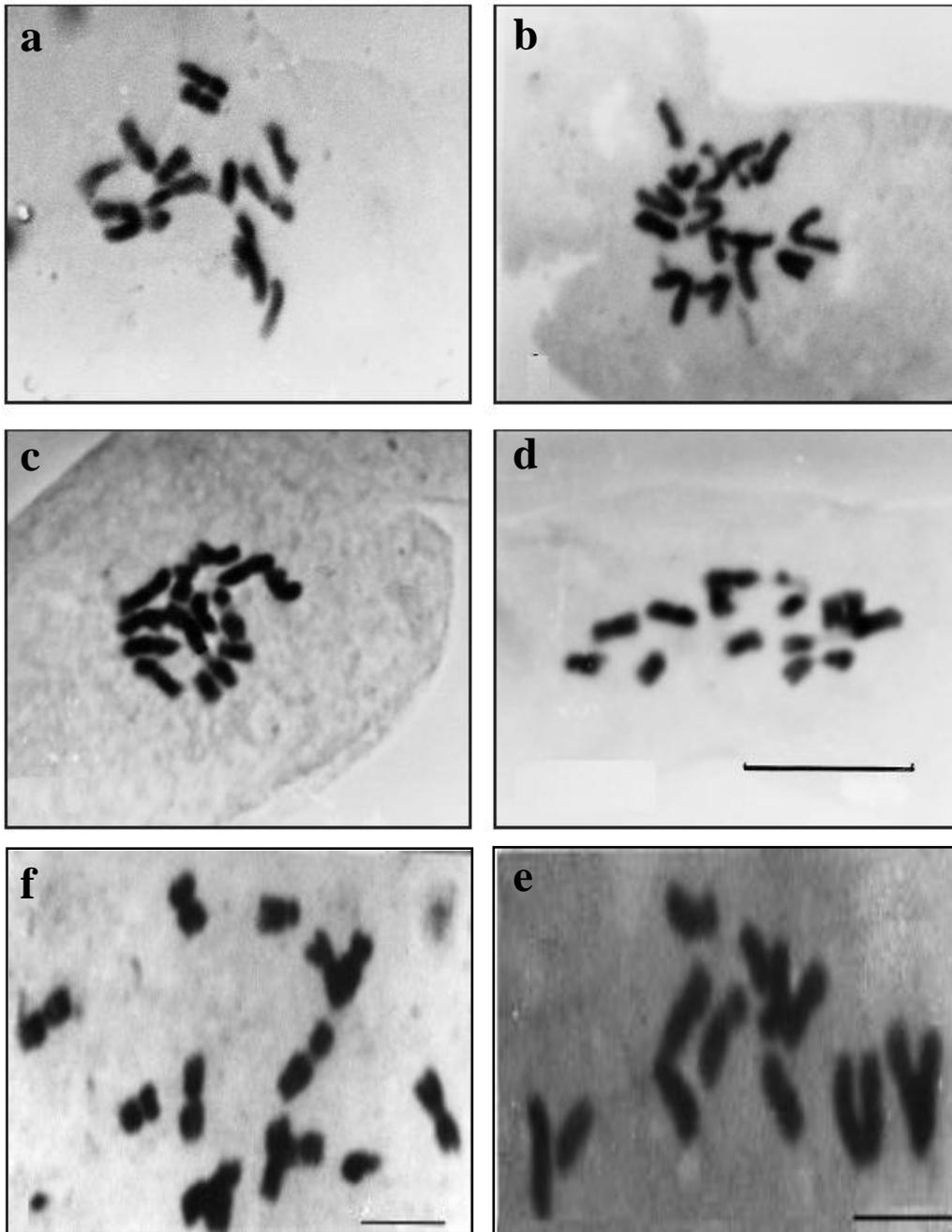


Figure 5: Plaques métaphasiques de 6 espèces d'*Ebenus* L. a) *Ebenus plumosa* var. *plumosa*, b) *Ebenus plumosa* var. *speciosa*, c) *Ebenus macrophylla*, d) *Ebenus barbiger*, (Aksoyet *al.*, 2001) e) *Ebenus longipes*, *Ebenus argentea* (Aytaç *et al.*, 2000). [Barre d'échelle correspond à 10 μ m pour a,b,c,d et de 5 μ m pour e,f]

Les données numériques concernant la garniture chromosomique de ces espèces sont présentées dans les tableaux I, et les idiogrammes correspondants sont au niveau de la figure 6.

Tableau I: Tailles (μm) des chromosomes de 6 espèces d'*Ebenus* L. (Aksoy *et al.*, 2001; Aytaç *et al.*, 2000).

Paires de chromosome	Bras long (L)	Bras court (C)	Le Rapport (L/C)	Taille Relative (%)	Taille Totale	Type de Chromosome
<i>E. plumosa</i> var. <i>Plumose</i>						
1	2.38	1.92	1.24	17.59	4.30±0.15	m
2	2.40	1.34	1.74	15.30	3.74±0.29	sm
3	2.08	1.59	1.31	15.02	3.67±0.14	m
4	0.77+1.34	1.53	1.38	14.89	3.64±0.14	m
5	1.91	1.54	1.24	14.12	3.45±0.12	m
6	1.60	1.37	1.17	12.15	2.97±0.04	m
7	1.46	1.21	1.21	10.92	2.67±0.06	m
Taille totale du lot haploïde 24.44 μm						
<i>E. plumosa</i> var. <i>speciosa</i>						
1	2.88	2.03	1.42	17.62	4.91±0.22	m
2	2.36	1.87	1.26	15.17	4.23±0.11	m
3	2.68	1.53	1.75	15.11	4.21±0.16	sm
4	2.19	0.94+1.02	1.12	14.89	4.15±0.21	m
5	2.05	1.80	1.14	13.81	3.85±0.11	m
6	2.08	1.35	1.54	12.31	3.43±0.13	m
7	1.74	1.35	1.29	11.09	3.09±0.11	m
Taille totale du lot haploïde 27.87 μm (+2.44 μm fragment on 6)						
<i>E. macrophylla</i>						
1	2.53	1.69	1.50	19.24	4.22±0.17	m
2	1.93	1.58	1.22	16.01	3.51±0.16	m
3	1.79	1.62	1.10	15.55	3.41±0.18	m
4	0.82+0.94	1.40	1.26	14.41	3.16±0.10	m
5	1.62	1.30	1.25	13.32	2.92±0.07	m
6	1.51	1.05	1.44	11.67	2.56±0.11	m
7	1.28	0.8	1.47	9.80	2.15±0.06	m
Taille totale du lot haploïde 21.93 μm						

<i>E. barbigera</i>						
1	1.47	1.31	1.12	18.12	2.78±0.13	m
2	1.45	1.18	1.23	17.14	2.63±0.16	m
3	0.54+0.68	1.15	1.06	15.45	2.37±0.15	m
4	1.20	0.99	1.21	14.27	2.19±0.12	m
5	1.13	0.84	1.35	12.84	1.97±0.08	m
6	0.99	0.83	1.19	11.86	1.82±0.09	m
7	0.82	0.76	1.07	10.30	1.58±0.07	m
Taille totale du lot haploïde 15.34 µm						
<i>E. longipes</i>						
1	2.07	1.49	1.38	17.62	3.56 ±0.26	m
2	1.79	1.47	1.22	16.14	3.26 ±0.16	m
3	1.70	1.30	1.31	14.90	3.01 ±0.16	m
4	1.68	1.17	1.44	14.11	2.85 ±0.10	m
5	0.86 +0.74	1.26	1.27	13.61	2.75 ±0.10	m ^{sc}
6	1.44	1.09	1.32	12.57	2.54 ±0.07	m
7	1.45	0.88	1.65	11.04	2.23 ±0.17	m
Taille totale du lot haploïde 20.20 µm						
<i>E. argentea</i>						
1	1.66	1.36	1.22	17.83	3.02 ±0.05	m
2	1.56	1.20	1.30	16.29	2.76 ±0.18	m
3	1.35	1.17	1.15	14.88	2.52 ±0.15	m
4	1.31	1.11	1.18	14.29	2.42 ±0.16	m
5	0.69+ 0.60	0.97	1.33	13.34	2.26 ±0.12	m ^{sc}
6	1.14	0.93	1.23	12.22	2.07 ±0.07	m
7	1.17	0.72	1.63	11.15	1.89 ±0.07	m
Taille totale du lot haploïde 16.94 µm						

sm: submétacentrique, m: métacentrique, sc: constriction secondaire.

Les 6 espèces du genre *Ebenus* L. sont diploïdes avec un nombre chromosomique de $2n = 2x = 14$ (Figure 6) avec des chromosomes de type métacentrique à submétacentrique (Aksoy *et al.*, 2001; Aytac *et al.*, 2000). Les formules chromosomiques et les tailles des chromosomes pour les 6 espèces sont résumés dans le tableau II.

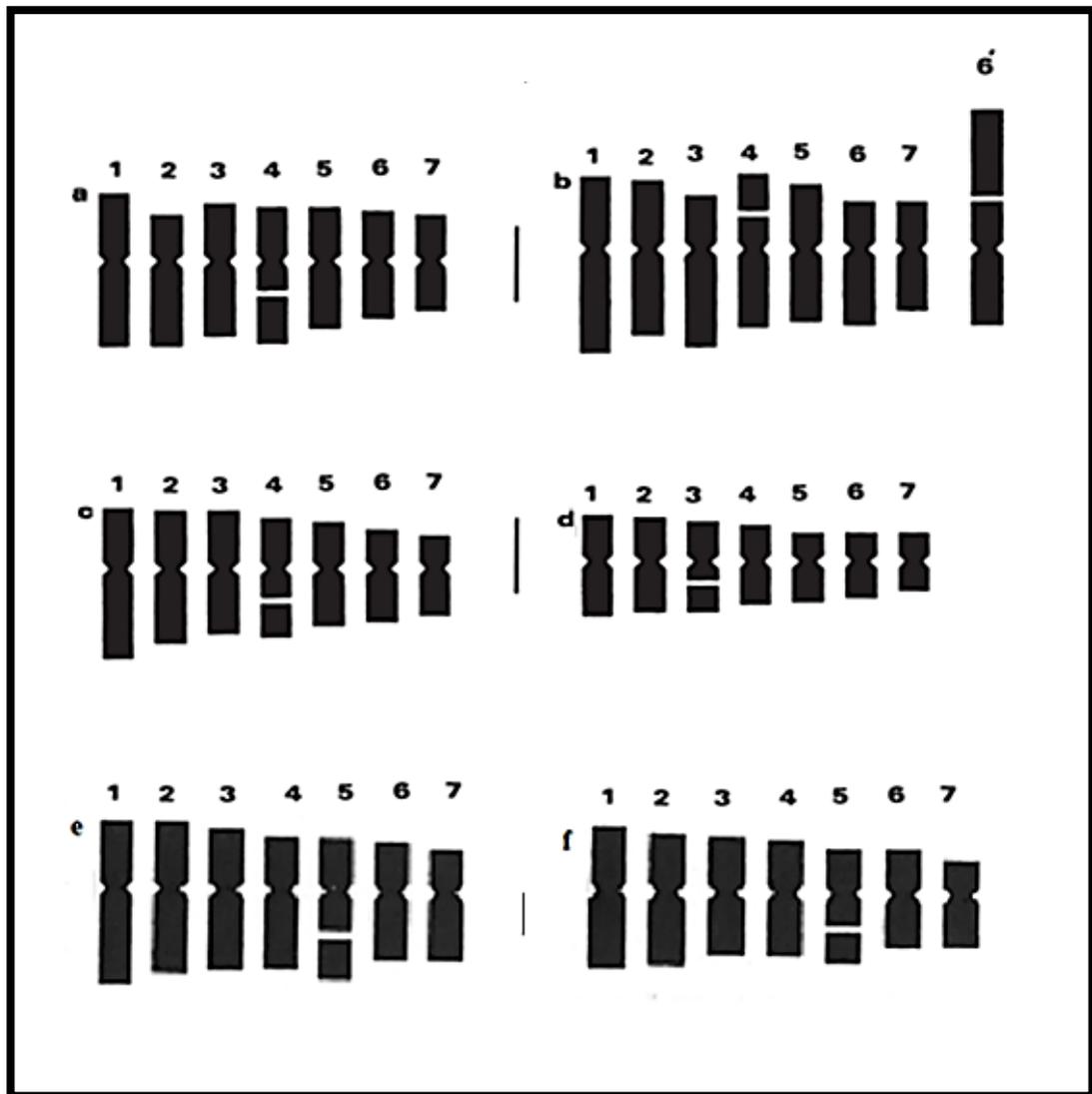


Figure 6: Idiogrammes de 6 espèces du genre *Ebenus* L. a- *E. plumosa* var. *Plumosa*, b- *E. plumosa* var. *Speciosa*, c- *E. macrophylla*, d- *E. barbiger*, (Aksoy et al., 2001); e- *E. longipes*, f- *E. argentea*, (Aytaç et al., 2000) [La barre d'échelle correspond à 2 μm pour a, b, c, d, et à 1 μm pour e, f].

Tableau II: Formules chromosomiques et tailles des chromosomes chez 6 espèces d'*Ebenus* (Aksoy *et al.*, 2001; Aytaç *et al.*, 2000).

Espèces	Formule chromosomique	Longueur totale des chromosomes (µm)	Longueur du lot haploïde (µm)
<i>E. plumosa</i> var. <i>plumosa</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m + 4sm$	48.88	24.44
<i>E. plumosa</i> var. <i>speciosa</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m + 4sm$	55.74	27.87
<i>E. macrophylla</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m$	43.86	21.93
<i>E. barbiger</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m$	30.68	15.34
<i>E. longipes</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m$	40.4	20.20
<i>E. argentea</i>	$2n = 2x = 14 = 10 m$	33.88	16.94

Chez *E. plumosa* var. *speciosa*, il y a présence d'un fragment additionnel de 2.44 µm au niveau du chromosome 6, la nature de ce fragment est inconnue, des études supplémentaires, comme des bandes C sont nécessaires pour déterminer sa nature (Aksoy *et al.*, 2001).

I.2.5- SYSTEMATIQUE ET PHYLOGENIE

La classification de l'espèce *E. pinnata* d'après la base de données NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=754876>, 2016) est comme suit (Tableau III):

Tableau III: Classification de l'espèce *Ebenus pinnata* Aiton (NCBI.).

Domaine	Eukaryota
Règne	Plantae
Sous règne	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta
Sous phylum	Streptophytina
Classe	Magnoliophyta
Sous classe	Rosids
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous famille	Papilionoideae

Tribu	Hedysareae
Genre	<i>Ebenus</i>
Espèce	<i>E.pinnata</i>

L'étude cladistique basée sur 21 caractères morphologiques de 26 taxa: 19 d'*Ebenus*, 2 de *Taverniera*, 2 d'*Onobrychis*, 2 d'*Hedysarum* à l'intérieur du groupe, plus *Alhagi persarum* à l'extérieur du groupe. Les résultats obtenus sont donnés en figure 7. *E. pinnata* se rapproche des espèces de la section *Euebenus* du genre *Ebenus*.

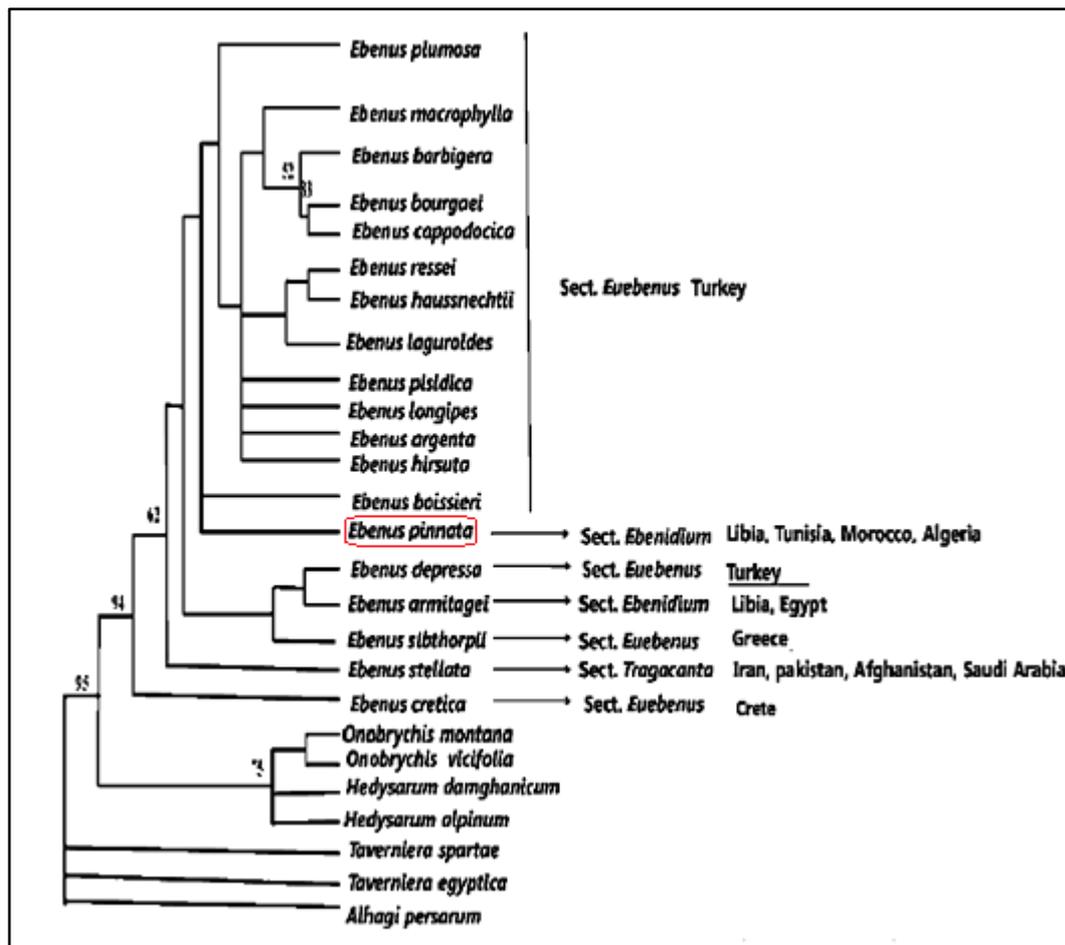


Figure7: Arbre le plus parcimonieux de l'analyse cladistique basée sur 21 caractères morphologiques des espèces du genre *Ebenus* et genres proches. Les valeurs sur les branches correspondent aux pourcentages bootstrap (Kaveh et Kazempour Osaloo, 2012).

Çelebi *et al.* (2009), en utilisant les profils SDS-PAGE des protéines extraites des graines de 15 espèce de *Ebenus* L. (*E. macrophylla*, *E. plumosa* var. *plumosa*, *E. plumosa* var. *speciosa*, *E. barbiger*, *E. resei*, *E. haussknechtii*, *E. depressa*, *E. bourgaei*, *E. cappadocica*, *E. boissieri*, *E. hirsuta*, *E. longipes*, *E. argentea*,

E. laguroides, *E. pisidica*) (Figure 8) ont pu réaliser une phylogénie pour 15 espèces (Figure 9).

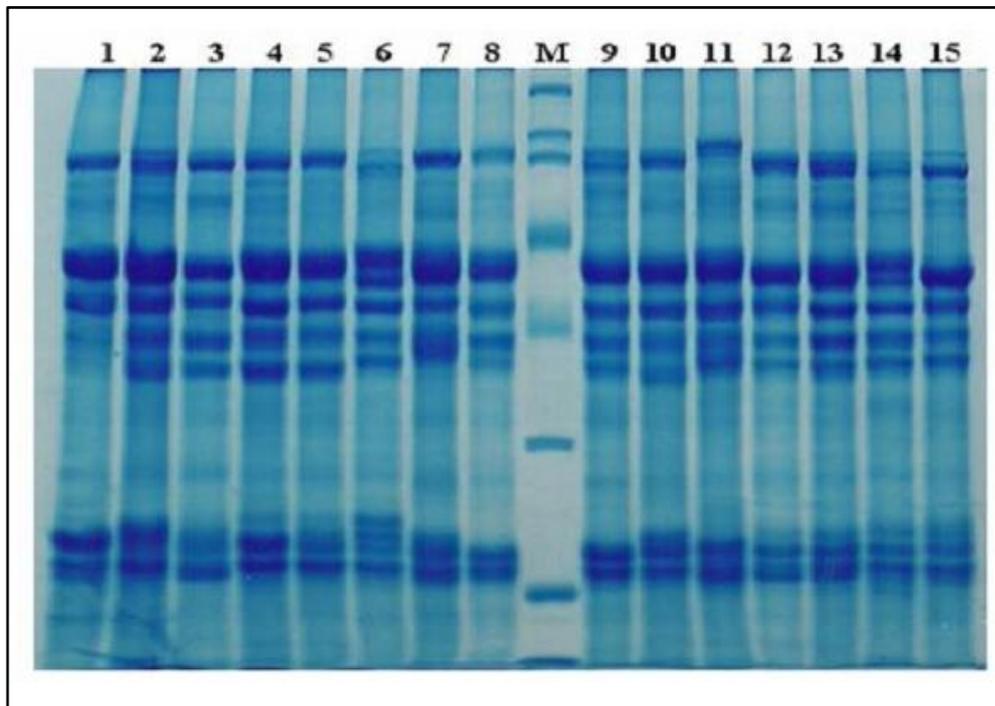


Figure 8: Profils SDS-PAGE des protéines des graines chez le genre Ebenus (1) *E. macrophylla*, (2) *E. plumosavar. plumosa*, (3) *E. plumosavar. speciosa*, (4) *E. barbiger*, (5) *E. reesei*, (6) *E. haussknechtii*, (7) *E. depressa*, (8) *E. bourgaei*, (M) Marqueurs [Myosine (200 kDa), β -galactosidase (116 kDa), phosphorylase b (97 kDa), sérum albumine (66 kDa), ovalbumine (45 kDa), anhydrase carbonique (31 kDa), inhibiteur de trypsine (21 kDa), lysozyme (14 kDa)], (9) *E. cappadocica*, (10) *E. Eboissieri*, (11) *E. hirsuta*, 12-*E. longipes*, (13) *E. argentea*, (14) *E. laguroides*, (15) *E. pisidica*. (Çelebi et al., 2009).

Ces résultats révèlent un rapport étroit entre *E. plumosa* var. *plumosa* et *E. plumosa* var. *Speciosa* avec une distance génétique de 0.4% (Figure 9) confirmant ainsi les liens étroits entre ces deux taxa selon les aspects morphologiques et cytogénétiques (Aksoy et al., 2001).

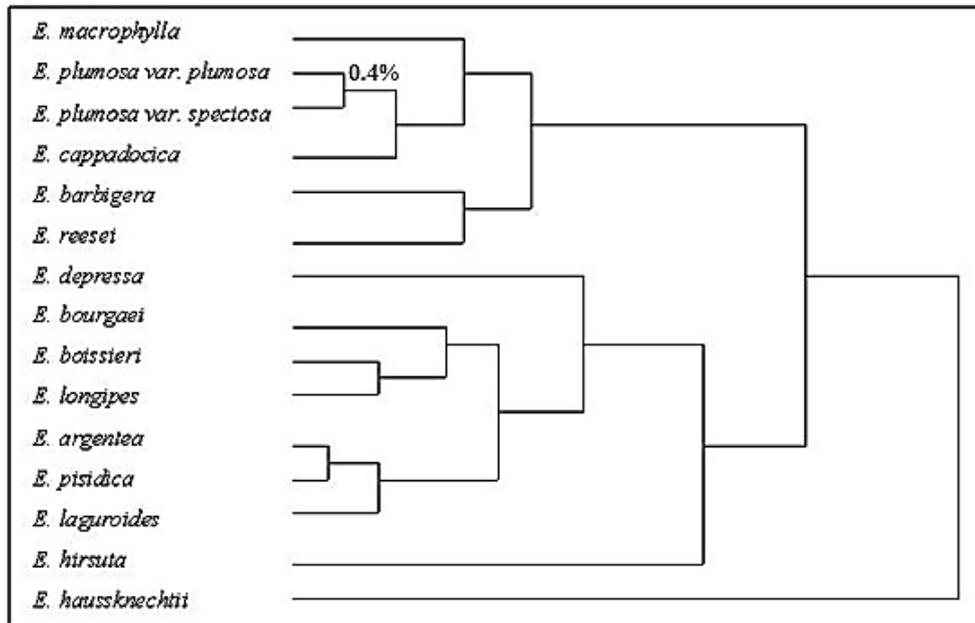


Figure 9: Phénogramme UPGMA basé sur les similarités calculées sur la base des profils SDS-PAGE des protéines des graines chez quelques espèces d'*Ebenus* (Çelebi *et al.*, 2009).

L'analyse par les mêmes auteurs de ces 15 espèces par RAPD (Figure 10) et ont réalisé un autre phénogramme UPGMA basé sur les distances génétiques (Figure 11). Cette phylogénie ne confirme pas l'étroite proche parenté d'*E. plumosa* var. *plumosa* et *E. plumosa* var. *speciosa* observée en figure 9.

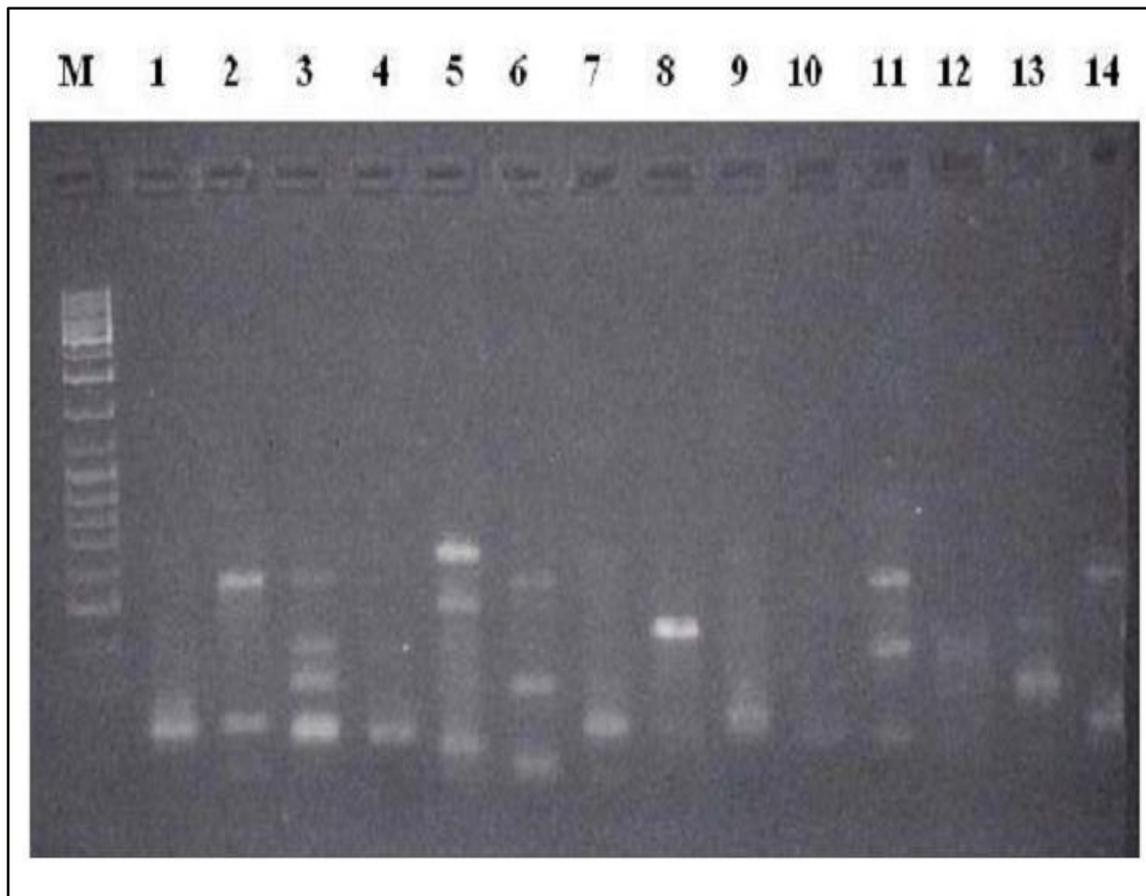


Figure 10: Profiles RAPD de 15 espèces du genre *Ebenus*. M: Marqueurs (Fermentas, Gene Ruler™ DNA Ladder Mix SMO331; 10000, 8000, 6000, 5000, 4000, 3500, 3000, 2500, 2000, 1500, 1200, 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 bp) 1-*E. macrophylla*; 2-*E. plumosa* var. *plumosa*; 3-*E. plumosa* var. *speciosa*; 4-*E. barbiger*; 5-*E. reesei*; 6-*E. haussknechtii*; 7-*E. depressa*; 8-*E. bourgaei*; 9-*E. cappadocica*; 10-*E. boissieri*; 11-*E. hirsuta*; 12-*E. longipes*; 13-*E. argentea*; 14-*E. laguroides* (Çelebi et al., 2009).

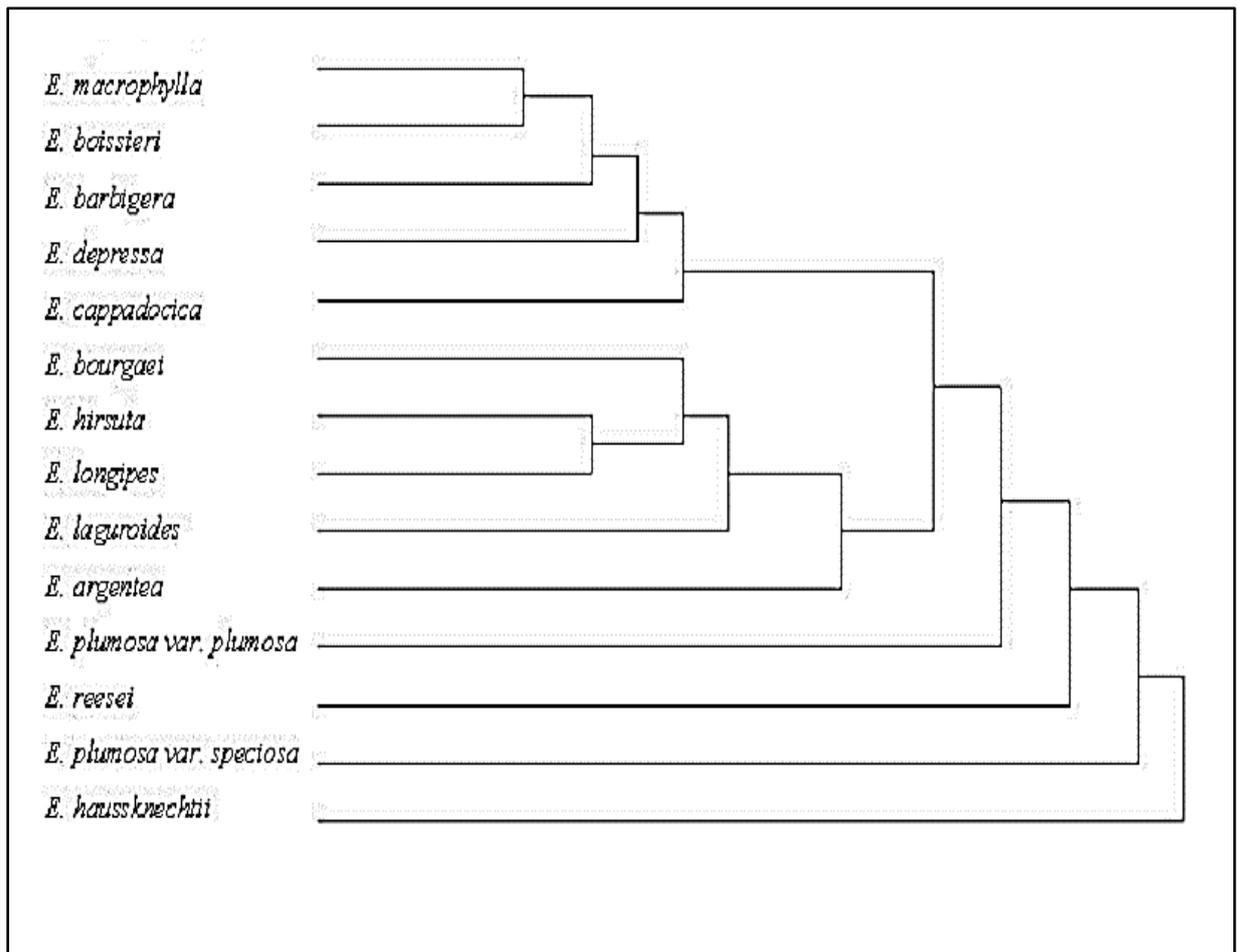


Figure 11: Phénogramme UPGMA basé sur les profils RAPD de 15 espèces du genre *Ebenus* (Çelebi *et al.*, 2009).

**MATÉRIEL
ET
METHODES**

II-MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement de l'université Abderrahmane MIRA à Béjaïa (UAM- Béjaïa).

II.1- MATÉRIEL UTILISÉ

II.1.1- ZONE D'ÉCHANTILLONNAGE

Le matériel végétal utilisé dans cette étude provient de différentes stations de la wilaya de Béjaïa (Tableau IV).

Tableau IV: Origine géographique et dates de récolte des échantillons (Entre 2014/ 2015).

	Origine géographique	Dates de récolte	Matériel échantillonné	
			Fruits murs	Boutons floraux
Espèce étudiée <i>Ebenus pinnata</i> Ait.	Amizour	23-06-2015	×	×
	Ath-Oussalah	30-05-2015	×	×
	Beni Maouche	27-06-2015	×	×
	Boudjlil	07-06-2015	×	×
	Kherrata (fleur blanche)	21-06-2014	×	×
	Kherrata (fleur rose)	09-04-2015		×
	Aguelmim	08-06-2015		×
	Ain Skhoune	30-05-2015	×	
	Oued Ghir	06-05-2015	×	×
	Akbou	03-06-2015	×	×
	Semaoune	28-07-2015	×	×
	Sedouk	20-06-2015	×	
	Thibouamouchine	27-06-2015	×	

II.2- ÉTUDE DES MITOSES

Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes. Elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules en divisions (**Jahier et al., 1992**).

L'emploi d'une technique adéquate doit permettre une bonne séparation des chromosomes avec des détails morphologiques permettant l'établissement correct du caryotype.

II.2.1- PRÉPARATIONS DES SOLUTIONS

II.2.1.1- LES SOLUTIONS DE PRÉTRAITEMENT

Trois solutions de prétraitement ont été préparées à savoir :

❖ 8-Hydroxyquinoléine 0.002 M :

Elle se prépare, en dissolvant par agitation 0.03 g de 8-hydroxyquinoléine dans 100 ml d'eau distillée.

❖ 8-Hydroxyquinoléine 0.003 M :

Elle se prépare, en dissolvant par agitation 0.04 g de 8-hydroxyquinoléine dans 100 ml d'eau distillée.

❖ Colchicine 0.5% (p/v):

Correspond à 0.5 g de colchicine dans 100 ml d'eau distillée.

II.2.1.2- LE FIXATEUR

Le fixateur utilisé est le Carnoy I composé de 3 volumes d'éthanol et d'1 volume d'acide acétique (Löve et Löve, 1975; Jahier *et al.*, 1992) noté Ethanol-Acide acétique 3:1.

II.2.1.3- LE COLORANT

Le colorant utilisé est l'orcéine lactopropionique préparé selon Dyer (1963) modifié selon Löve et Löve (1975). Les étapes suivies sont :

- Dissolution de 2 g de la poudre d'orcéine dans un mélange 23 ml d'acide propionique et 23 ml d'acide lactique.
- Ajustement avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml.
- Agitation de la préparation sur une plaque agitatrice.
- Filtration de la solution.

Les solutions préparées doivent être conservées dans des bouteilles fumées pour éviter leur dégradation éventuelle par la lumière.

II.2.1.4- LES SOLUTIONS D'HYDROLYSE

L'agent le plus fréquemment utilisé est l'acide chlorhydrique préparé comme suit :

- ❖ Solution d'HCl à 1N

Pour la préparer, verser 90 ml d'HCl fumant (35 %, d=1.17) puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 1 L.

- ❖ Solution d'HCl à 2N

Pour la préparer, verser 180 ml d'HCl (35 %, d=1.17) puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 1 L.

Remarque : attention, lors de ces préparations, pour éviter l'explosion, toujours verser l'eau distillée en premier puis ajouter la quantité d'HCl.

II.2.2- ÉTAPES DE LA PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE MITOSES

➤ **Germination des graines**

Les semences sont mises à germer sur du papier saturé d'eau distillée dans des boîtes de pétri à l'ombre et à température ambiante (c. 20°C).

Lorsque les méristèmes racinaires ont atteint environ 1 à 1,5 cm de longueur, les prélèvements sont effectués.

➤ **Le prétraitement**

Les prélèvements des méristèmes racinaires s'effectuent préférentiellement le matin entre 9h30 et 10h00, où la période est favorable à l'observation d'un grand nombre de divisions et sont ensuite plongés dans une solution antimitotique saturée, pour permettre de contracter les chromosomes ce qui facilitera leur individualisation et obtenir ainsi un grand nombre de plaques métaphasiques (**Barghi et al., 1989**). Dans la présente étude, les solutions antimitotiques utilisées sont la 8-hydroxyquinoleine 0.002 M pendant 3 h 30 à T°= 20° C (**Barghi et al., 1989**), 8-hydroxyquinoleine 0.002 M pendant 3 h 30 à l'ombre, 8-hydroxyquinoleine 0.003 M pendant 3 h 30 à l'ombre (**Ahuja, 1987**) et Colchicine 0.5% à l'ombre pendant 3 h (Tableau V).

Cette étape de prétraitement a été suivie par la vibration au vortex (40 Hertz pendant 7 minutes) des tubes contenant des apex racinaires afin d'améliorer la séparation des chromosomes dans le cytoplasme des cellules en division par cassure des microtubules des fuseaux achromatiques.

Tableau V: Les protocoles utilisés pour la préparation des observations de mitose.

Protocoles	Les solutions utilisées
Protocole 1	<ul style="list-style-type: none"> • 8-hydroxyquinoleine 0.002 M pendant 3 h 30 à T°= 20° C (Barghi et al., 1989). • Carnoy I (3 : 1) pendant 24h (Barghi et al., 1989). • Hydrolyse HCl 1N pendant 10 min à T°=60 °C (Jabeen et al., 2012). • Coloration pendant 10 min à T°=60 °C.
Protocole 2	<ul style="list-style-type: none"> • 8-hydroxyquinoleine 0.002 M pendant 3 h 30 à l'ombre. • Vibration pendant 07 min, vitesse= 40 Hertz. • Carnoy I (3 : 1) pendant 24h. • Hydrolyse HCl 2N pendant 15 min à T°=60 °C (Aksoy et al., 2001). • Coloration pendant 10 min à T°=60 °C.
Protocole 3	<ul style="list-style-type: none"> • 8-hydroxyquinoleine 0.003 M pendant 3 h 30 à l'ombre (Ahuja, 1987). • Vibration pendant 07 min, vitesse= 40 Hertz. • Hydrolyse HCl 2N pendant 15 min à T°=60 °C. • Coloration pendant 10 min à T°=60 °C.
Protocole 4	<ul style="list-style-type: none"> • Colchicine 0.5% à l'ombre (Mazzola et al., 2001). • Vibration pendant 07 min, vitesse= 40 Hertz. • Carnoy I (3 : 1) pendant 24h. • Hydrolyse HCl 2N pendant 15 min à T°=60 °C. • Coloration pendant 10 min à T°=60 °C.

➤ **La fixation**

Le fixateur Carnoy I à base d'éthanol-acide acétique (3:1) appliqué pendant une durée de 24h permet de détruire toute vie cellulaire et bloquer les divisions en conservant l'intégrité structurale des chromosomes.

➤ **Hydrolyse**

Cette étape ramollit les parois cellulaires, facilitant l'étalement et l'éclaircissage des cellules; elle se fait en utilisant HCl titré à 1N ou 2N à 60 °C.

➤ **Coloration et écrasement des racines**

Afin de mettre en évidence les zones méristématiques et améliorer la visibilité des chromosomes lors de leurs observations, les racines hydrolysées sont placées dans des tubes contenant de l'orcéine lactopropionique puis placées dans le bain marie pour une durée de 10 à 15 min.

➤ **Observation**

Les observations sont faites à l'aide d'un microscope photonique OPTIKA-B350 équipé d'un appareil photographique. Les meilleures plaques ont été sélectionnées et photographiées au grossissement $\times 100$ en ajoutant une goutte d'huile à immersion.

II.3- ÉTUDE DES MÉIOSES

II.3.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS

II.3.1.1- FIXATEUR

Le fixateur utilisé est le Carnoy II, qui est un mélange d'éthanol, chloroforme et d'acide acétique glacial (6:3:1).

Ce fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires, sans léser ou détruire la structure chromosomique et une bonne conservation du matériel végétal par son rôle aseptisant (**Jahier et al., 1992**).

II.3.1.2-COLORANT

Le colorant utilisé est toujours l'orcéine lactopropionique préparée comme précédemment (§ **II.2.1.3, p.18**).

II.3.2- ÉTAPES DE LA PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE MÉIOSES

➤ **Fixation**

Les jeunes boutons floraux sont fixés *in situ* (sur le terrain) dans du Carnoy II à d'éthanol, chloroforme et d'acide acétique glacial (6:3:1).

Sous une loupe binoculaire, les plus jeunes boutons floraux sont disséqués sur une lame bien propre dans une goutte d'eau, à l'aide de deux aiguilles.

➤ **Coloration**

Une goutte de colorant (orcéine) est ajoutée aux anthères qui sont ensuite recouvertes avec une lamelle. Le surplus de colorant est absorbé avec du papier filtre, puis, par une pression du pousse sur la lamelle, les anthères sont écrasées pour les faire éclater et libérer les cellules mères polliniques.

➤ **Observation**

Comme pour les mitoses, les observations sont faites à l'aide d'un microscope photonique OPTIKA-B350 équipé d'un appareil photographique. Les meilleurs plaques ont été sélectionnées et photographiées au grossissement x 100 en ajoutant une goutte d'huile à immersion.

II.4- ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE

Cette analyse se fait sur des fleurs avant l'anthèse (**Martens et Hammersmith, 1998**).

II.4.1- PRÉPARATION DU COLORANT (BLEU DE COTON)

- 8 volumes de glycérine,
- 4 volumes d'acide lactique à 85%,
- 4 volumes de solution de phénol (1gde cristaux de phénol + 4 ml d'eau distillée),
- 2 volumes d'eau distillée,
- 1 volume de bleu d'Aniline à 1% (0,05 ml + 100 ml d'eau distillée).

II.4.2- PROTOCOLE DE PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DES GRAINS DE POLLEN

Dans une goutte d'eau sur une lame de microscope, sous loupe binoculaire, les anthères sont isolées et disséquées à l'aide de deux aiguilles pour récupérer le maximum de grains de pollen. Une fois les débris des anthères éliminés, la goutte d'eau contenant les grains de pollen est séchée à l'air libre. Puis, une petite goutte de bleu de coton est appliquée sur les grains de pollen séchés puis recouverte par une lamelle. Après au moins 10 minutes pour laisser agir le colorant, l'observation est faite au microscope photonique au grossissement 40. Pour quelques préparations l'orcéine lactopropionique a été utilisée à la place du bleu de coton.

II.4.3- ÉVALUATION DE TAUX DE FERTILITÉ POLLINIQUE

400 et 500 grains de pollen sont observés pour compter le nombre de grains normaux et le nombre de grains anormaux. Les grains de pollen normaux sont uniformément tandis que les anormaux sont de taille réduite, mal colorés et de forme anormale (**Belkacem, 2013**).

Le taux de fertilité pollinique est calculé selon la formule suivante :

$$TF(\%) = \frac{N}{(N+AN)} \times 100$$

Sachant que :

TF: taux de fertilité pollinique (en %).

N: nombres de grains de pollen normaux (fertiles).

AN: nombres de grain de pollen anormaux (stériles).

**RESULTATS
ET
DISCUSSION**

III.1- RÉSULTATS

III.1.1- MORPHOLOGIE D'*EBENUS PINNATA*

La figure 12 montre un herbier complet avec racine, tiges, feuilles et inflorescences d'*Ebenus pinnata*.



Figure 12: Herbier d'*Ebenus pinnata* (Kherrata, le 04/05/2016), Originale.

Les détails de la morphologie des plantes chez *E. pinnata* sont illustrés dans la figure 13.

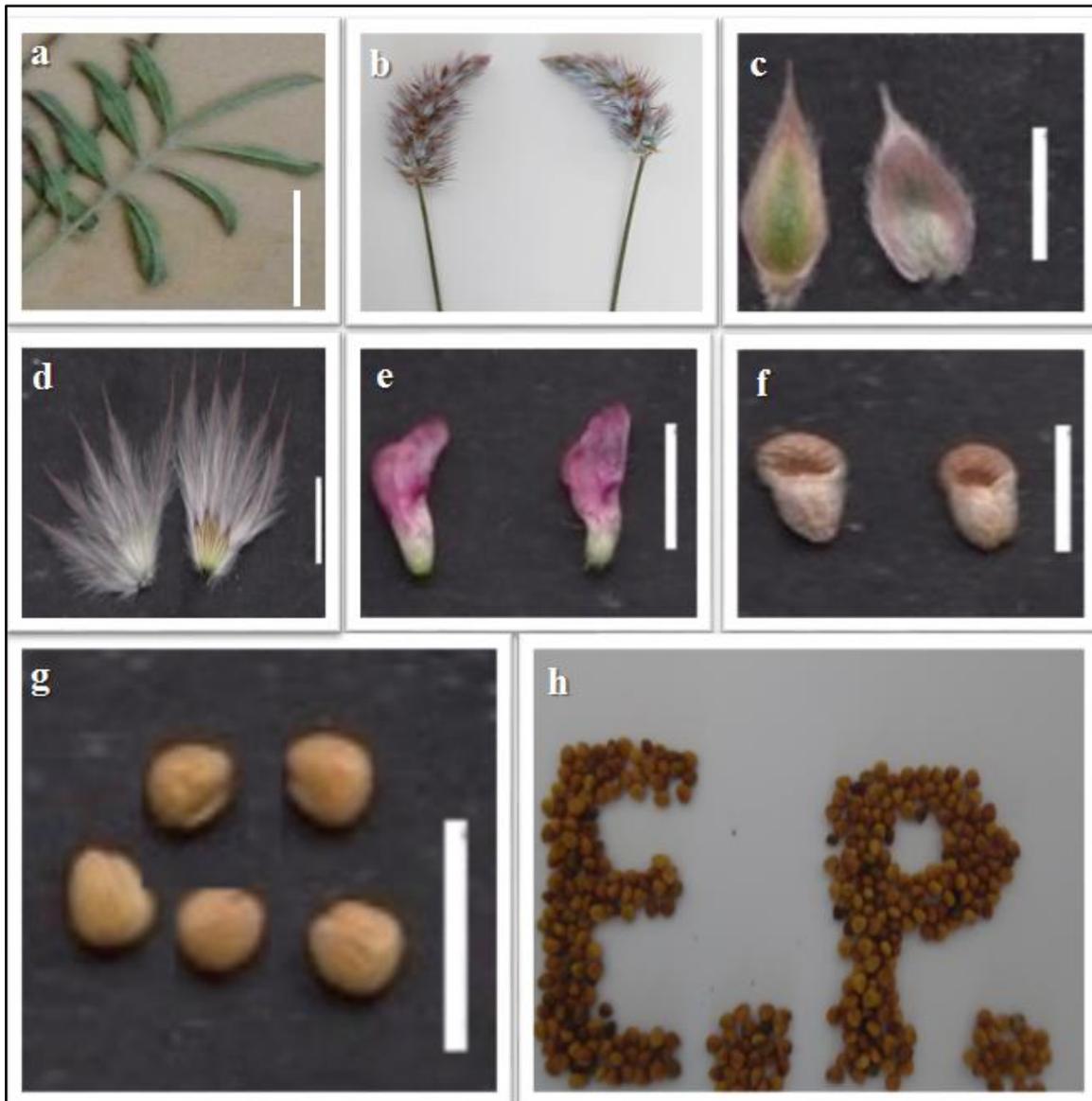


Figure 13 : Morphologie de la plante *Ebenus pinnata*. **a-** Feuille, **b-** Inflorescence, **c-** Bractée, **d-** Calice, **e-** Corolle, **f-** Gousse, **g,h-** Graines [La barre d'échelle correspond à 2cm pour a, et à 5 mm pour b,c,d,e,f,g] Originale.

III.1.2- GERMINATION ET CULTURE

Le protocole suivi pour faire germer les graines a donné de bons résultats du point quantité et qualité des germinations obtenues, avec un taux de germination voisin de 100 % (Figure 14). Les graines germent mieux lorsqu'elles ne sont pas détachées du fruit.



Figure 14: Graines d'*Ebenus pinnata* en germination. (Prise par un appareil photos type SAMSUNG LENS), Originale.

III.1.3- RÉSULTATS DE L'ÉTUDE CYTOGENETIQUE

III.1.3.1- ÉTUDE DES MITOSES

III.1.3.1.1- LES STADES DE LA MITOSE

Les différents stades de la mitose ont pu être observés pour *E. pinnata*. Ils sont illustrés sur la figure 15.

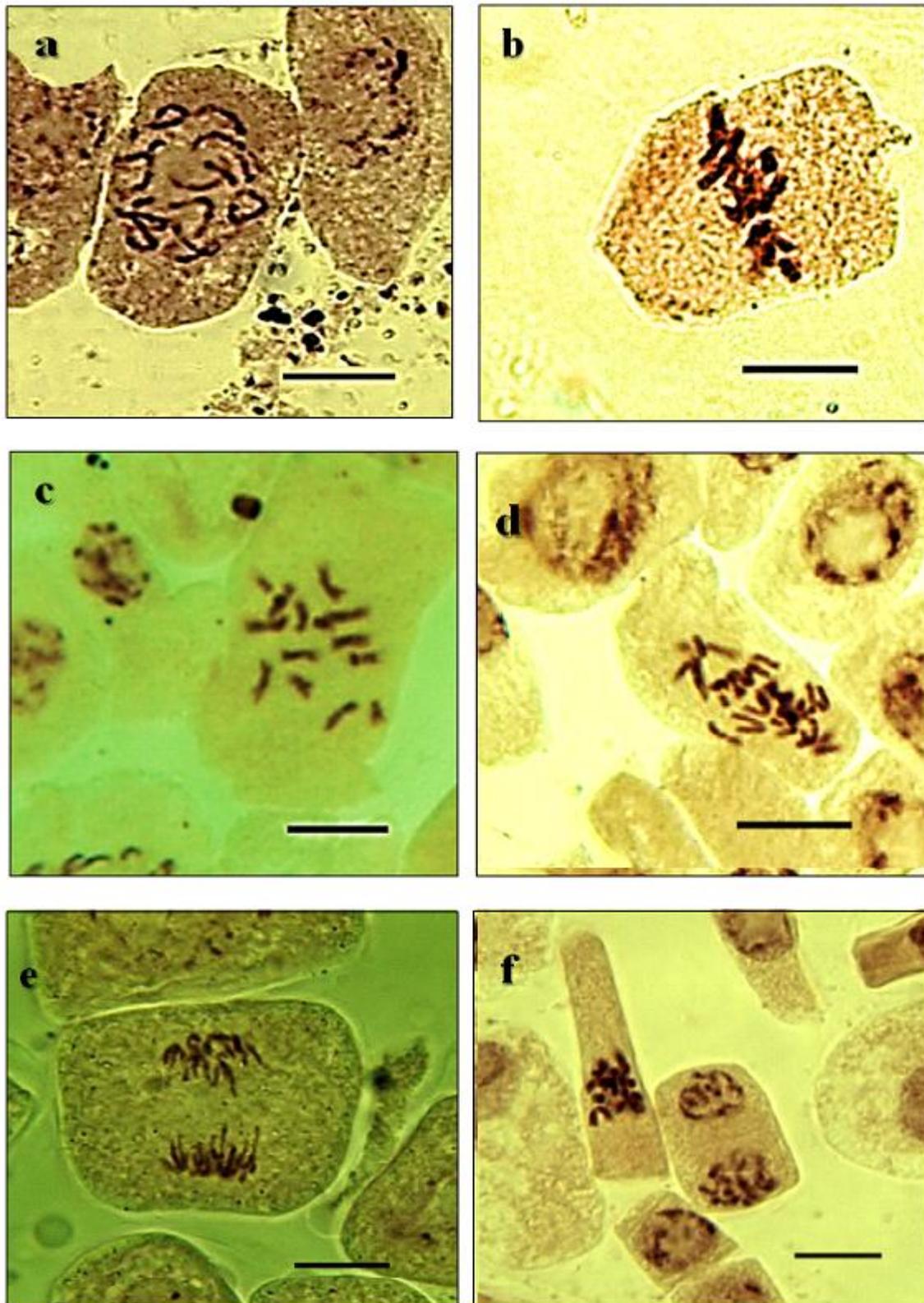


Figure 15: Les différents stades de la mitose chez *Ebenus pinnata* de la région de Béjaïa. a-prophase, b- métaphase vue de profile, c- métaphase vue de face, d-début d'anaphase,e-fin d'anaphase, f-télophase. [GX100.La barre d'échelle correspond à 10 μ m].

III.1.3.1.2- COMPTAGE DES CHROMOSOMES EN MITOSE

Les meilleures observations sont obtenues lorsque les racines sont soumises aux vibrations après prétraitement. Sur plusieurs plaques métaphasiques, le nombre de chromosomes a pu être compté. Il est de $2n = 2x = 14$ dont une paire satellifère (Figure 16-a).

III.1.3.1.3- ETABLISSEMENT DU CARYOGRAMME

Les mesures ont été effectuées sur 5 plaques métaphasiques. Les valeurs numériques concernant les tailles des chromosomes et leurs types, telles données par le logiciel *KaryoType_Win* sont présentées dans le tableau VI. Les longueurs des chromosomes vont de 1,5 à 4,7 μm . La formule chromosomique est donc, d'après les résultats (Tableau VI), $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$, la paire 3 étant satellifère (Figure 16).

Tableau VI: Taille des chromosomes mitotiques d'*Ebenus pinnata*. Les chromosomes sont classés par ordre décroissant de longueur totale (L+C).

chromosomes	L (μm)	C (μm)	L+C (μm)	IC %	Type de Centromère
1	2,40	2,28	4,68	48,71	m
2	2,41	2,20	4,61	47,72	m
3	2,36	1,97	4,33	45,49	m
4	2,18	1,84	4,02	45,65	m
5	2,02+0,83	1,09	3,94	27,66	sm
6	2,07+0,6	1,01	3,68	27,44	sm
7	1,77	1,50	3,27	45,87	m
8	1,47	1,29	2,76	46,73	m
9	1,65	1,20	2,85	42,10	m
10	1,59	1,25	2,85	43,85	m
11	1,51	1,26	2,77	45,48	m
12	1,41	1,19	2,60	45,76	m
13	1,68	0,50	2,18	22,93	sm
14	1,09	0,41	1,51	27,15	sm

L: bras long, C: bras court, L + C: taille totale du chromosome, IC %: indice centromérique, m : métacentrique, sm: sub-métacentrique.

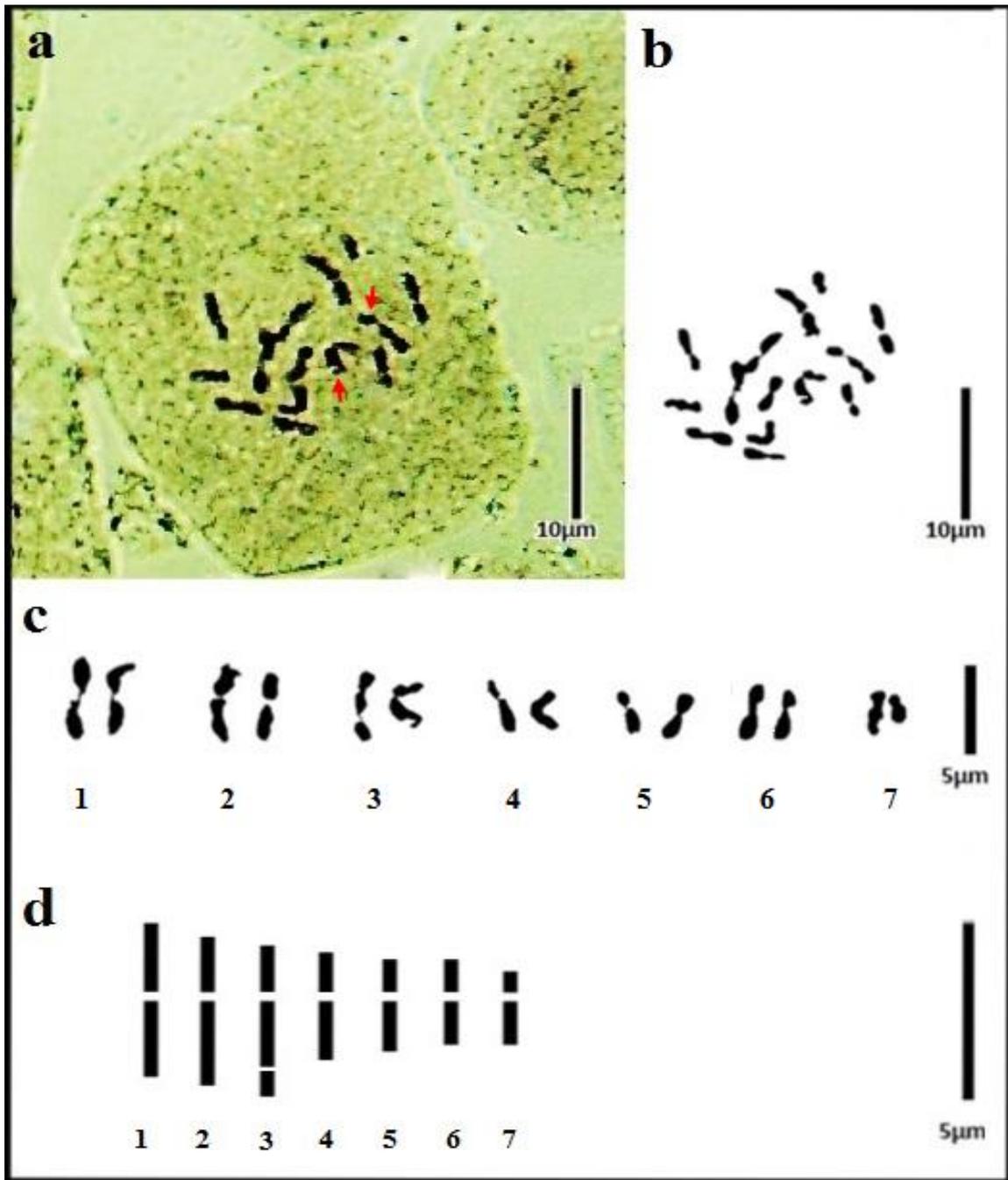


Figure 16 : Caryotype d'*Ebenus pinnata* de la région de Béjaïa. a: Microphotographie d'une plaque métaphasique d'une cellule en mitose (Protocole N°3); b: Interprétation de la plaque métaphasique en a; c: Caryogramme basé sur b; d: Idiogramme correspondant à d. Les flèches indiquent les chromosomes satellifères.

III.1.3.2–ÉTUDE DES MÉIOSES

III.1.3.2.1–LES ÉTAPES DE LA MÉIOSE

Les principales étapes de la méiose observées pour le matériel d'*E. pinnata* étudié sont illustrées par la figure 17.

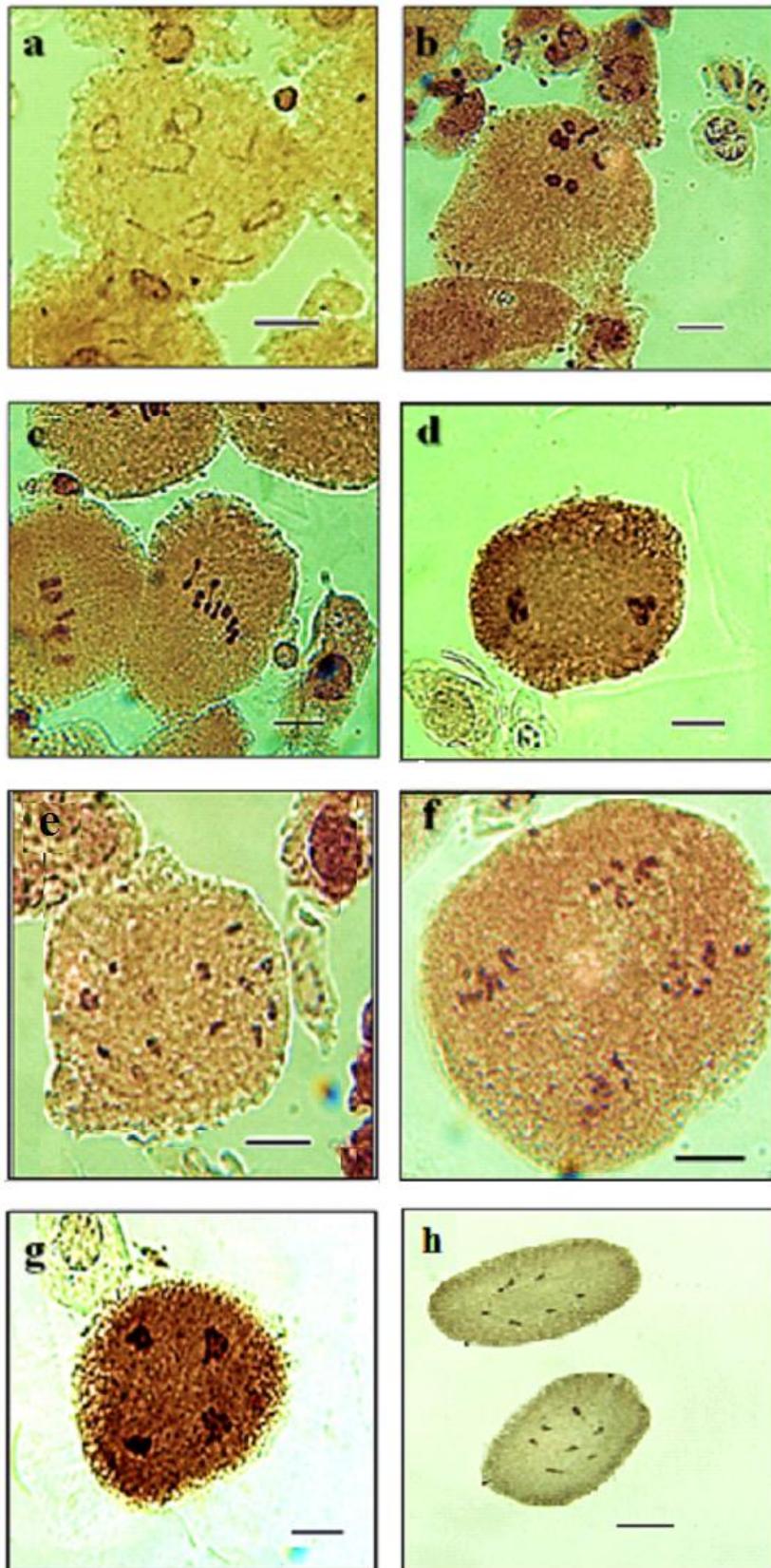


Figure 17: Les stades de la méiose chez *Ebenus pinnata* de Béjaïa. a-prophase, b- métaphase I, c- début d'anaphase I, d- fin d'anaphase, e-métaphase II, f-anaphase II, g-télophase, h- mitose dans les grains de pollen. [GX100. La barre d'échelle correspond à 10 µm].

III.1.3.2–ÉTUDE DES CHROMOSOMES EN MÉIOSE

Les chromosomes ont pu être comptés à la fois en métaphase I et métaphase II de la méiose (Figure 17 b et e), et même dans les mitoses des grains de pollen (Figure 17 h). Les 7 bivalents correspondent à $2n = 2x = 14$. L'appariement des chromosomes a été toujours en 5 en anneaux et 2 linéaires (Figure 17 a et b).

III.1.3.3– ANALYSE DE FERTILITÉ POLLINIQUE

Les grains de pollen du matériel d'*E. pinnata* analysé sont tricolpés (triaperturés) et apparaissent à contours elliptiques en vue équatoriale et à contours circulaires en vue polaire (Figure 18).



Figure 18: Forme des Grains de pollen de l'*Ebenus pinnata*. Coloration à l'orcéine lactopropionique. La flèche indique un grain de pollen en germination. La barre d'échelle correspond à 20 μ m, GX40.

L'évaluation du taux de fertilité chez *E. pinnata*, estimée sur la base des comptages des grains de pollen normaux (fertiles) et des grains de pollen anormaux (stériles) (Figure 19), a été faite sur plusieurs populations. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau VII. Les taux de fertilité pollinique varient de 90 % à 98,50% avec une moyenne de $95,08 \pm 2,73\%$.

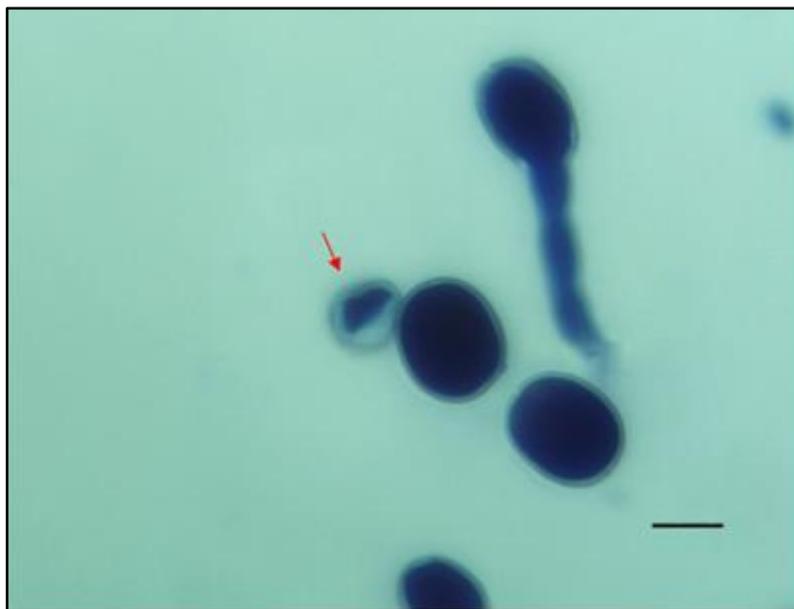


Figure 19: Grains de pollen normaux et grains de pollen anormaux d'*Ebenus pinnata*. Coloration au bleu de coton. La flèche indique un grain de pollen anormal. [La barre d'échelle correspond à 20 μ m, GX40].

Tableau VII : Taux de fertilité pollinique chez l'*Ebenus pinnata* de Béjaïa.

Zone d'échantillonnage	Kherrata	Aith Ousalah	Akbou	Boudjlil
Taux de fertilité pollinique %	93,47	97,10	93,21	94,98
	93,58	95,87	91,22	92,51
	95,18	96,98	90,00	94,55
	95,29	97,98	97,50	96,03
	95,70	90,00	98,16	96,55
	96,00	96,96	96,89	97,56
	96,25	97,49	96,50	94,70
	97,22	91,77	94,80	96,70
	98,49	94,83	97,77	95,01
	93,86	91,70	94,55	92,24
Moyenne	95,55	94,65	95,06	95,08
Moyenne générale	95,08 \pm 2,73 %			

III.2–DISCUSSION

III.2.1–PRÉPARATION DES OBSERVATIONS DE CHROMOSOMES

La mise à germination des graines sans les débarrasser du calice et des téguments de la gousse a augmenté les taux de germination. La suppression de la fixation et l'introduction du traitement des méristèmes racinaires par des vibrations au vortex a nettement amélioré la séparation des chromosomes et a ainsi permis la réalisation d'un bon caryogramme pour les populations d'*E. pinnata* de Béjaïa.

De plus, la coloration à l'orcéine a donné des résultats largement satisfaisants à la fois sur les mitoses, les méiosees et les grains de pollen. Cela rejoint l'observation de **Lograda (2010)** qui a noté que ce colorant a l'avantage de ne pas colorer les nucléoles, ni les membranes nucléaires, ni le cytoplasme; seuls les chromosomes prennent la coloration et ils n'ont pas tendance à trop se colorer. Ce colorant a aussi permis de bien visualiser les différentes étapes de la mitose et de la méiose sur le matériel étudié ici.

III.2.2– DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES

Les nombres chromosomiques comptés pour le matériel d'*E. pinnata* analysé dans cette présente étude (Populations Amizour, Ath-Oussalah, Beni Maouche, Boudjlil, Kherrata (fleur blanche), Kherrata (fleur rose), Aguelmim, Ain Skhoune, Oued Ghir, Akbou, Semaoune, Sedouk, Thibouamouchine) sont toujours de $2n = 2x = 14$ (**Figure 15 c, Figure16a**), avec un nombre de base de $x = 7$. C'est aussi le nombre compté pour une micropopulation d'*E. pinnata* d'Ighzer Amokrane (**Aloui et Rezki, 2012**). Ce nombre de $2n = 14$ chromosomes est aussi celui rapporté pour toutes les autres espèces étudiées jusqu'ici de par le monde à savoir *E. plumosa* Boiss. et Ball. (avec ses deux variétés: *E. plumosa* var. *speciosa* et *E. plumosa* var. *plumosa*), *E. macrophylla* Jaub, *E. barbiger* Boiss., *E. longipes* Boiss. et Bal., *E. argentea* Siehe ex Bornm. (**Aksoyet al., 2001; Aytac et al., 2000**).

III.2.3–MORPHOLOGIE ET TAILLE DES CHROMOSOMES

Le caryotype du matériel d'*E. pinnata* étudié ici (Figure16) est constitué de 7 paires chromosomiques dont cinq paires (1, 2, 4, 5, et 6) sont à chromosomes de type métacentrique, et de 2 paires (3 et 7) à chromosomes de type submétacentrique, avec la paire 3 à chromosomes portant un satellite sur leurs bras longs, d'où la formule chromosomique de $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ (2 sat). Le caryotype d'*E. pinnata* est donc plutôt symétrique puisqu'il contient plus de chromosomes métacentriques. Selon

certain auteurs, l'évolution serait allée dans le sens de l'asymétrie du caryotype (Stebbins, 1971, Gorenflot et Raicu, 1980). Vu comme ça, *E. pinnata* serait donc caryotypiquement plutôt primitif. La longueur des chromosomes d'*E. pinnata* étudié ici varie de 6,40 à 1,91 µm.

Tous les chromosomes de *E. longipes*, *E. argentea*, *E. macrophylla* et les *E. barbiger*a sont des métacentriques (Aytaç et al., 2000; Aksoy et al., 2001).

Aksoy et al. (2001) ont rapporté que pour *E. plumosa* var. *plumosa* et *E. plumosa* var. *speciosa*, les longueurs totales des chromosomes (L+C) sont de 4,30-2,67 µm et de 4,91-3,09 µm, respectivement. Les longueurs totales des lots haploïdes de chromosomes sont très proches pour les deux taxa avec des valeurs de 24,44 µm pour *E. plumosa* var. *plumosa* et 27,87 µm pour *E. plumosa* var. *speciosa*, avec un satellite sur le bras court d'un chromosome de la paire 6 de *E. plumosa* var. *speciosa*. La formule chromosomique pour ces deux taxa est de $2n = 12m + 2sm$.

Toujours d'après Aksoy et al. (2001), concernant *E. macrophylla* et *E. barbiger*a, tous les chromosomes sont métacentriques. Cependant, les longueurs totales des chromosomes (L+C) sont plus petites chez *E. barbiger*a que chez *E. macrophylla*. Ces longueurs totales des chromosomes vont de 4,22-2,15 µm pour *E. macrophylla* et de 2,78-1,58 µm pour *E. barbiger*a. La longueur totale d'un lot haploïde de chromosomes est de 21,93 µm *E. macrophylla* et 15,34 µm pour *E. barbiger*a (Aksoy et al. 2001).

Les satellites sont présents sur le bras du chromosome 4 de l'*E. plumosa* var. *plumosa*, de l'*E. plumosa* var. *speciosa* et de l'*E. macrophylla*. En ce qui concerne l'*E. barbiger*a, les satellites se trouvent sur le chromosome 3. Et sur le chromosome 5 pour l'*E. longipes* et l'*E. argentea* (Aytaç et al. 2000; Aksoy et al. 2001).

A titre comparatif, concernant l'*E. pinnata* analysé dans ce présent travail, les longueurs totales des chromosomes sont de 4,68 à 1,51 µm avec une longueur totale d'un lot haploïde de chromosomes de 23,01 µm, avec les chromosomes de la paire 3 portant des satellites. Sa formule chromosomique est de $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$. On en déduit que du point de vue longueur des chromosomes, *E. pinnata* ne dépasse pas les 4 taxa, et du point de vue de la symétrie du caryotype, il est intermédiaire entre les deux premiers [*E. plumosa* var. *plumosa* (24,44 µm) et *E. plumosa* var. *speciosa* (27,87 µm)] et les deux seconds [*E. barbiger*a (15,34 µm) et *E. macrophylla* (21,93 µm)] (Aksoy et al., 2001).

III.2.4–ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE

Les taux de fertilité pollinique calculés pour les populations abordées dans ce travail varient de 90 % à 98,50% avec une moyenne de 95,08% (Tableau VI), ce qui est assez élevé et en accord avec l'absence d'anomalies de la méiose. Les causes à l'origine de la réduction de la fertilité pollinique sont les anomalies de la méiose, les différents stress abiotiques (choc thermiques) et biotiques (attaques parasitaires) (**Benmouhoub, 2007**). Les anomalies de la méiose sont attribuées par certains auteurs dans certains à des hybridations entre espèces proches (sous-espèces) (**Benmouhoub, 2007**); les caryotypes chez les hybrides apparues seraient instables ne s'appariant pas correctement en métaphase I. Vu la régularité de la méiose et de la fertilité pollinique élevé du matériel étudié ici, il peut être déduit que la reproduction de cette plante ne serait pas affectée par les conditions du milieu (elle est donc bien adaptée à son environnement) et qu'il n'y aurait différentes sous-espèces pour les populations étudiées.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les graines d'*Ebenus pinnata* étudié ici germent mieux lorsqu'elles ne sont pas débarrassées du calice et des téguments de la gousse. De plus, la suppression de la fixation et l'introduction du traitement des méristèmes racinaires par des vibrations au vortex, après prétraitement à la 8-hydroxyquinoléine à 0,002 M, a nettement amélioré la séparation des chromosomes. Et la coloration à l'orcéine a donné de bons résultats largement satisfaisants à la fois sur les mitoses, les méiosees et les grains de pollen.

Les nombres chromosomiques comptés pour le matériel d'*E. pinnata* analysé dans cette présente étude (Populations d'Amizour, Ath-Oussalah, Beni Maouche, Boudjlil, Kherrata (fleur blanche), Kherrata (fleur rose), Aguelmim, Ain Skhoune, Oued Ghir, Akbou, Semaoun, Sedouk, Thibouamouchine) sont toujours de $2n = 2x = 14$ chromosomes, avec un nombre de base de $x = 7$.

Le caryogramme et l'idiogramme construits à partir des meilleures plaques métaphasiques de mitoses racinaires est constitué de 7 paires chromosomiques dont cinq paires (1, 2, 4, 5, et 6) sont à chromosomes métacentriques, et de 2 paires (3 et 7) à chromosomes submétacentriques, avec la paire 3 portant un satellite sur les bras longs, d'où la formule chromosomique de $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ (2 sat.).

Le caryotype d'*E. pinnata* est donc plutôt symétrique puisqu'il contient plus de chromosomes métacentriques, peu de submétacentriques et pas du tout de subtélocentriques.

La longueur des chromosomes d'*E. pinnata* étudié ici varie de 4,68 à 1,51 μm . La longueur totale du lot haploïde de chromosomes est estimé à 23,01 μm .

Les grains de pollen sont de forme prolata (sphéroïde), isopolaires et tricolpés (3 ouvertures). Les taux de fertilité pollinique calculés pour les populations analysées varient de 90 % à 98,50% avec une moyenne de 95,08 %, ce qui est assez élevé et en accord avec l'absence d'anomalies de la méiose.

En guise de perspectives, il sera très intéressant d'élargir l'étude cytogénétique à d'autres populations d'*E. pinnata*, analyser le polymorphisme de l'ADN et la structure génétique de ces populations, réaliser la phylogénie moléculaire de cette espèce pour la situer par rapport aux autres.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abou-El-Enain, M. M. (2002). Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus *Onobrychis* Mill. sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 409–414.
- Ahuja, M.R. (2012). Springer Science & Business Media, 225 p.
- Aksoy, H., Ünal, F., Aytac, Z.(2001). Karyological study on four endemic *Ebenus* L. taxa (Leguminosae) in Turkey. *Caryologia*, 54(4): 307-311.
- Aloui,N. et Rezki, K.(2012). Caractérisation morphologique et cytogénétique de deux endémiques Nord Africaines, *Genistaferox* Poir. Et *Ebenus pinnata* Ait. (Fabaceae) du Golfe de Béjaïa. Master II TVE, Dpt SBE, FSNV, Université de Béjaïa, 51 p.
- Aytac, Z. (2000). The genus *Ebenus* L. (Leguminose/Fabaceae) in Turkey. *Karaca Arboretum*, 5: 145-171.
- Aytac, Z, Ünal, F, and Pinar, M.N.(2000). Morphological, palynological, and cytotaxonomical study of *Ebenus longipes* Boiss. & Bal. and *E. argentea* Siehe ex Bornm. (Leguminosae) from Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences* 48: 321–326.
- Azcan, N., Saricoban, S.,Demirci, Aytac, Z., Baser, K. H. C.(2001). SEE DOILS OF FIFTEEN *Ebenus* TAXA GROWING IN TURKEY. *Chemistry of Natural Compounds* 37(3):253-255.

B

- Badr, A., Khelifa, S. F., Aboel-Atta, A. I., Abou-El-Enain, M. M.(1997). Chromosomal criteria and taxonomic relationships in the Solanaceae. *Cytologia* 62: 103–113.
- Barghi,N., Mugnier, C., and Siljak-Yakovlev, S.(1989). Karyological studies in some *Hypochoeriss.* (*Compositae*) from Sicily. *Plant Systematics and Evolution* 168: 49-57.
- Bayrakdar,F., Aytac, Z., Suludere, Z., Candan, S.(2010).Seed morphology of *Ebenus* L. species endemic to Turkey. *TUBİTAK* 34: 283-289.
- Belkacem, F. (2013).Etude cytogénétique de quelques angiospermes endémiques à l'Algérie (Populations du Golfe de Béjaïa).En vue de l'obtention du diplôme de *Magister en Biologie Spécialité*, option : Ecologie et Environnement, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, 70 p.
- Benmouhoub, H. (2007). Analyse d'hybrides F₁ et F₂ intra- et/ou interspécifiques chez *Medicago polymorpha* L., *M. intertexta* (L.) Miller, *M. ciliaris* (L.) Krockner, *M. Arabica* (L.) Hudson, *M. orbicularis* (L.) Bartal. Et *M. minima* (L.) Bartal.: interprétation taxogénétique. *Magister en Biologie*, Option : Biologie de la Conservation et Eco développement, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, 86 p.

C

- Çelebi, A, Açık L. and Aytaç, Z. (2009). Biosystematic studies among *Ebenus*L. species based on morphological, RAPD-PCR and seed protein analyses in Turkey. *Pak. J. Bot.* 41(5): 2477-2486.
- Ceylan, R., Katanić, J.,Gokhan, Z., Sanja, M., Abdurrahman, A., Tatjana, B., Snežana S., Vladimir, M., Gokalp, O. G.,*et al.*(2009). Chemical and biological fingerprints of two Fabaceae species (*Cytisopsisdorycnii folia* and *Ebenus hirsuta*): Are they novel sources of natural agents for pharmaceutical and food formulations?. *Industrial Crops and Products* 84:254–262.
- Cronk, Q, Ojeda I. and Pennington, R.T.(2006). Legume comparative genomics: progress in phylonetics and phylogenomics. *Current Opinion in plant biology* 9: 99-103.

D

- Dupont,F.and Guignard, J.L. (2007). *Abrégé de Botanique*. 14ème édition, Paris : Editions Masson. 285 p.
- Dyer,A.F.(1963). The use of lacto-propionic orcein in rapid squash. *Methods for chromosome preparations. Stain Technology* 38: 85-90.

G

- Gandoger, M. M., (1908). Flore du littoral méditerranéen du Maroc.*Bulletin de la Société Botanique de France* 55(7):561-567.
- Gorenflot R. et P. Raicu. (1980): *Cytogénétique et évolution*. New York: Edition Masson, Paris.181 p.
- Gray, P.,(1954). *The microtomist's formulary and guide*. Published by Constable and Company. London. 794 p.
- Güner, A., Aslan, S. Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi işbirliğiyle. *Flora Araştırmaları Derneği ve*, 1-10.

H

- Hegazy, A.K., Kabiél, H.F., Boulos, L., Sharashy, O.S. (2010). Functional traits and life history diversity of the North Africa endemic *Ebenus pinnata* Aiton. *Flor*, 205: 666–673.

J

- Jabeen, R.,Iftikhar, T., Mengal,T., and Khattak, M.I. (2012). A comparative chromosomal count and morphological karyotyping of three indigenous cultivars of Kalongi (*Nigella sativa* L.), *Pak. J. Bot.* 44(3): 1007-1012.
- Jahier, J., Chever, A. M., Eber, F., Delourne, R.,Tanguy, A.M. (1992). *Techniques de la cytogénétique végétale*. Ed. INRA, Paris, 183 p.

Johansen, D.A.,(1940). Plant microtechniques, Mc. Graw-Hill Ed., New York, 478 p.

K

Kaabèche, M. (2013).La flore d'Algérie: ressource de développement durable ou source de biopiraterie?, The First International Seminar on Medicinal Plants, Health and Environment (SI-PMSE'13), University of Msila, October 20-21, 2013.

Kammacher, M. et Zygomala, A. M., (1987). Analyse statistique du caryotype de *Pinus nigra*. var. *salzmanni* Asc. (Gro.). *Bull. Soc. Bot. Fr.* 134(2): 185-195.

Kaveh A., and Osaloo S. K.(2012). Cladistic analysis of the genus *Ebenus* (Fabaceae-Hedysareae) based on morphological data. *Taxonomy and Biosystematics* 4(11):1-6.

Khodaparast, A., Sayyah, M., Sardari, S.,(2012). Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extract and aqueous fraction of *Ebenus stellata* in mice. *J. Basic Med. Sci.* 15 (3): 811–819.

L

Löve A.,Löve D. (1975). *Plants chromosomes*. T1, Ed. Cramer, 184 p.

Lograda, T. (2010). Etude caryologique et phytochimique de Six Espèces endémiques du genre *Genista*L. en Algérie. Thèse de doctorat en sciences, Option : Biologie végétale, Université Ferhat Abbas – Sétif, Algérie, 134 p.

M

Mazzola,P., Raimondo, F.M., Moret, J. (2001). *Proceedings of the 9th OPTIMA Meeting*. Herbarium Mediterraneum Panormitanum. Université du Michigan, 628 p.

N

Nouioua, W. (2011). Biodiversité et ressources phylogénétiques D'un écosystème forestier « *Paeonia mascula* (L.) Mill. ». Pour l'obtention du diplôme de MAGISTER, Option : Biodiversité et gestion des écosystèmes, Université Ferhat Abbas de Sétif, 65 p.

O

Ozdemir, E., Alpınar, K. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus mountains: Aladaglar (Nigde–Turke). *J. Ethnopharmacol.* 166: 53–65.

P

Pedro, M. Abreu, H. B., Ben Jannet, H., Mighri, Z. and Matthew, S. (2007). Antioxidant compounds from *Ebenus pinnata*. *Fitoterapia* 78:32–34.

Pınar, N.M.,Vural, C.,Zytac, Z.(2000). Pollen morphology of *Ebenus* L. (Leguminosae:subfamily Papilionoideae) in Turkey.*Pak. J. Bot.* 32(2): 303-310.

Q

Quézel, P., Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. T2. Ed. CNRS, Paris, 516 p.

S

Stebbins, G. L. (1971). *Chromosomal evolution in higher plants*. London, UK: Edward Arnold (Publishers) Ltd. 216 p.

U

Uyar, Z., Böke, N., Türkay, E., Koz, Ö., Yas, A. I., Kırmızıgül, S., (2006). Flavonoid glycosides and methylinositol from *Ebenus haussknechtii*. *Nat. Prod. Res.* 20(11): 999-1007.

W

Wojciechowski, M.F. Lavin, M. and Sanderson, M.J.A.(2004). Phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *MATK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 11: 1846-2004.

Websites

<http://www.teline.fr/fr/photos/fabaceae/ebenus-pinnata#photo-7>, (Consulté le 18.04.2016).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=754876>, (Consulté le 11.5.2016).

CGB, <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=fr&id=146333>, (Consulté le 26.05.2016).

Etude cytogénétique de l'espèce *Ebenus pinnata* Aiton (Fabaceae) du Golfe de Béjaïa et de la Vallée de la Soummam

Résumé : Une dizaine de populations d'*Ebenus pinnata* du Golfe de Béjaïa et de la Vallée de la Soummam ont été analysées. A la fois sur les mitoses et les méioses, les nombres chromosomiques comptés pour toutes les populations sont de $2n = 2x = 14$, comme toutes les espèces du genre *Ebenus*. Les méioses observées sont régulières et les chromosomes toujours appariés en 7 bivalents à la métaphase II avec toujours 5 en anneaux et 2 linéaires. Aucune anomalie liée à la méiose, n'a été observée. Le caryogramme et l'idiogramme montrent cinq paires à chromosomes métacentriques et de 2 paires à chromosomes submétacentriques, avec la paire 3 portant deux satellites sur les bras longs. La formule chromosomique obtenue est $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ (2 sat.). La longueur des chromosomes varie de 6,40 à 1,91 μm . La longueur totale du lot haploïde de chromosomes est estimé à 23.06 μm . Les grains de pollen sont de forme prolate, isopolaires et tricolpés. Les taux de fertilité pollinique sont de 90-98,50% avec une moyenne de 95,08%, ce qui est assez élevé et en accord avec l'absence d'anomalies de la méiose.

Mots clés : *Ebenus pinnata*, mitose, méiose, chromosomes, fertilité pollinique.

Cytogenetic study of *Ebenus pinnata* Aiton (Fabaceae) from the Gulf of Bejaia and the Valley of Soummam

Summary : Ten populations of *Ebenus pinnata* from the Gulf of Bejaia and the Soummam Valley were analyzed. In both mitosis and meiosis, the chromosome number was counted for all populations and it was $2n = 2x = 14$, like all species of *Ebenus*. The observed meioses were regular and the chromosomes always paired in 7 bivalents at metaphase II with always 5 in rings and 2 linear. No abnormalities were observed in relation to meiosis. The constructed karyogram and idiogram show five pairs of metacentric chromosomes and 2 pairs of submetacentric ones, in which the third pair is carrying two satellites on the long arms. The chromosome formula obtained is $2n = 2x = 14 = 10m + 4SM$ (2 sat.). The chromosome lengths vary from 6.40 to 1.91 μm . The total length of the haploid set of chromosomes is estimated at 23.06 μm . Pollen grains are prolate, isopolar and tricolpate. Pollen fertility rates are of 90-98.50% with an average of 95.08%, which is quite high and in agreement with the absence of abnormalities linked to meiosis.

Keywords: *Ebenus pinnata*, mitosis, meiosis, chromosomes, pollen fertility.

ملخص دراسة وراثية خلوية لنوع *Ebenuspinnata* Aiton لخليج بجاية و واد الصومام .

ملخص: عشرا من التجمعات النباتية لـ *Ebenus pinnata* المؤخوذة من خليج بجاية و واد الصومام قد تم تحليلها . في كلا الانقسامين الخيطي و الاختزالي , تم تقدير عدد الكروموزومات في كل التجمعات بـ $2n = 2x = 14$, كما هو الحال في كل أنواع الـ *Ebenus*. الانقسام الاختزالي الذي لوحظ كان منتظم و الكروموزومات تواجدت على شكل أزواج من 7 ثنائيات في حالة الطورية الثانية لها 5 على شكل حلقي و 2 على شكل خطي. لا وجود لأية مفارقة في الانقسام الاختزالي. النمط النووي والأبيوغرام أظهرت 5 ثنائيات لكروموزومات نصف وسطية و 2 فوق وسطية, بحيث أن الزوج 3 يحتوي على قرنين في الساق الطويل. الصيغة الصبغية المستخرجة هي $2n = 2x = 14 = 10m + 4SM$ (2 sat.). طول الكروموزوم يتراوح ما بين 6.40 و 1.91 ميكرون. الطول الكلي لأحادي الصيغة الصبغية قدر بـ 23.06 ميكرون. حبوب الطلع كان لها شكل بيضوي. النسبة المؤوية لخصوبة حبوب الطلع قدرت بين 90-98.50% بقيمة وسطية تعادل 95.08% والتي تمثل قيمة كبيرة تتوافق مع عدم تواجد الطفرات في الانقسام الاختزالي .

كلمات مفتاحية: *Ebenus pinnata*, الانقسام الخيطي, الانقسام الاختزالي, الكروموزومات, خصوبة حبوب الطلع.

.

:

.

